Aus der Chirurgischen Klinik und Poliklinik
der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. L. Koslowski

Untersuchung über den Einfluß eines K-Mg-Aspartat-ACD-Stabilisators auf den Kohlenhydrat- und Energiestoffwechsel von Vollblut unter Zusatz verschiedener Histidinkonzentrationen

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der Medizinischen Fakultät
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt von
GABRIELE KNAUS
aus Sigmaringen

1983

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543903_0028

Aus der Chirurgischen Klinik und Poliklinik
der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. L. Koslowski

Untersuchung über den Einfluß eines K-Mg-Aspartat-ACD-Stabilisators auf den Kohlenhydrat- und Energiestoffwechsel von Vollblut unter Zusatz verschiedener Histidinkonzentrationen

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der Medizinischen Fakultät
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt von
GABRIELE KNAUS
aus Sigmaringen

1983

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan:	Prof. Dr. W. Frommhold
1. Berichterstatter:	Prof. Dr. W. Heller
2. Berichterstatter:	Prof. Dr. V. Hempel

Druck: Zeeb-Druck, Tübingen 7 (Hagelloch)

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

		Seite
I.	EINLEITUNG	1
II.	MATERIAL UND METHODIK	3
	1) Zusammensetzung der Stabilisatoren	3
	2) Gewinnung des Konservenblutes	4
	3) Probenahme	4
	4) Methoden zur Bestimmung der Parameter	6
	5) Statistisches Testverfahren	27
III.	ERGEBNISSE MIT GRAPHISCHER DARSTELLUNG	29
IV.	DISKUSSION	74
	1) Kritik der Methodik der pH-Bestimmung	74
	2) K-Mg-Aspartat-ACD-Stabilisator + Histidinzusatz	75
	3) Magnesium	80
	4) pH-Wert	81
	5) ATP	82
	6) 2,3-Diphosphoglycerat	84
	7) Parameter der Glycolyse	89
V.	ZUSAMMENFASSUNG	103
VI.	TABELLARISCHER ANHANG	105
VII.	LITERATURVERZEICHNIS	131

Verzeichnis der Abbildungen

Nr.	Inhalt	Seite
1	Magnesium	29
2	Vergleich: Magnesium	31
3	pH	33
4	Vergleich: pH	34
5	ATP	36
6	Vergleich: ATP	37
7	2,3-Diphosphoglycerinsäure	39
8	Glucose	40
9	Vergleich: Glucose	42
10	Glucose-6-Phosphat	44
11	Fructose-6-Phosphat	46
12	Fructose-1,6-Diphosphat	48
13	Vergleich: Fructose-1,6-Diphosphat	50
14	Glycerinaldehyd-3-Phosphat	52
15	Dihydroxyacetonphosphat	53
16	Vergleich: Dihydroxyacetonphosphat	55
17	2-Phosphoglycerat	57
18	Vergleich: 2-Phosphoglycerat	59
19	Phosphoenolpyruvat	61
20	Vergleich: Phosphoenolpyruvat	63
21	Pyruvat	65
22	Vergleich: Pyruvat	67
23	Lactat	69
24	Vergleich: Lactat	70
25	Vergleich: pH sofort/nach 6 Stunden	72

Verzeichnis der Tabellen

Nr.	Inhalt	Seite
1	Magnesium	106
1a	Magnesium	107
2	pH	108
2a	pH	109
3	pH nach 6 Stunden	110
4	ATP	111
4a	ATP	112
5	2,3-Diphosphoglycerinsäure	113
6	Glucose	114
6a	Glucose	115
7	Glucose-6-Phosphat	116
8	Fructose-6-Phosphat	117
9	Fructose-1,6-Diphosphat	118
9a	Fructose-1,6-Diphosphat	119
10	Glycerinaldehyd-3-Phosphat	120
11	Dihydroxyacetonphosphat	121
11a	Dihydroxyacetonphosphat	122
12	2-Phosphoglycerat	123
12a	2-Phosphoglycerat	124
13	Phosphoenolpyruvat	125
13a	Phosphoenolpyruvat	126
14	Pyruvat	127
14a	Pyruvat	128
15	Lactat	129
15a	Lactat	130

a kennzeichnet die Tabellen des Stabilisators mit höherer Histidinkonzentration (Stab II)

I EINLEITUNG

Voraussetzung für das Gelingen einer Bluttransfusion war die Entdeckung der Blutgruppen durch Landsteiner im Jahre 1901 (34).

Der Beginn der Geschichte der brauchbaren Blutkonservierungsmittel ist verbunden mit den Namen Hustin, Lewisohn und Agote, die in den Jahren 1914/15 unabhängig voneinander die anticoagulatorische Wirkung von Natrium-Citrat auf Blut entdeckten (34,75). Kurze Zeit später, im Jahre 1919, formulierten Rous und Turner nach Experimenten mit Zuckerzusätzen einen Citrat-Dextrose-Stabilisator, der auch heute noch in abgewandelter Form verwendet wird (34,75).

Die Entdeckung von Maizels und Whittacker 1940 und Loutit 1943, daß Ansäuerung die Überlebenszeit der Erythrocyten verlängert, führte schließlich zu den ACD-Stabilisatoren, die bis heute nicht grundsätzlich verbessert werden konnten (34), obwohl man in vielen Experimenten versuchte, durch verschiedene Zusätze eine Verbesserung für die Funktion und Überlebensfähigkeit des Blutes zu erreichen und den Konservierungsschaden zu vermindern (8,34,70,71). Die Zusetzung von Adenin, Inosin, Guanin, Phosphat, Pyruvat-Xylit ging von theoretischen Überlegungen aus und brachte eine Verbesserung insbesondere im Hinblick auf die Erhaltung von ATP als Indikator der Überlebensfähigkeit von Erythrocyten.

Die Überlegung, die Haltbarkeit von Vollblut in Kalium-Magnesium-Aspartat zu untersuchen, ging von den guten Erfahrungen aus, die man mit ihm vor allem in der Anästhesie gemacht hatte (37,48). Gute Ergebnisse bei der Konservierung ließen damit noch zusätzlich eine günstige Auswirkung auf den Empfängerorganismus erwarten.

Die negativen Auswirkungen, die Kläger (38) und Schaible (67) bei in K-Mg-Aspartat stabilisiertem Vollblut feststellten, versuchte man durch Zusetzen von Histidin (24, 50) auszugleichen. Dabei ging man wieder von klinischen

Erfahrungen aus. Man hatte festgestellt, daß "Histidin im Sinne eines physiologischen Puffers die Protektion des Myocards bei der großen offenen Herzchirurgie in signifikantem Ausmaß begünstigt" (22).
Die Aufgabe unserer Untersuchung war nun in erster Linie der Vergleich zwischen diesem K-Mg-Aspartat-ACD-Stabilisator mit Histidinzusatz und dem von uns untersuchten mit nur geringerer Histidinkonzentration.
Wir untersuchten den Kohlenhydratstoffwechsel mit ATP und 2,3-Diphosphoglycerat, den Citratzyclus, den Elektrolytstoffwechsel (Natrium, Kalium, Chlorid), Spurenelemente (Magnesium, Kupfer, Zink), Blutwerte (Erythrocyten, Leukocyten, Hämoglobin, Hämatokrit, mittleres korpuskuläres Volumen), den pH-Wert und die Osmolarität.

In dieser Arbeit soll diskutiert werden:
der Kohlenhydratstoffwechsel,
ATP als Parameter des Energiestoffwechsels,
2,3-DPG als Parameter der Sauerstofftransportfunktion
Magnesium und
der pH-Wert.
Den Elektrolytstoffwechsel, die Zwischenprodukte des Citratzycluses, Kupfer, Zink, die Blutwerte und die Osmolarität diskutiert Groß (28).
Von den Parametern der Glycolyse konnten nur Glucose, Fructose-1,6-Diphosphat, Dihydroxyacetonphosphat, 2-Phosphoglycerat, Phosphoenolpyruvat, Pyruvat und Lactat verglichen werden; außerdem noch ATP, Magnesium und der pH-Wert.

II MATERIAL UND METHODIK

1. Zusammensetzung der Stabilisatoren

Die hier untersuchten und verglichenen Stabilisatoren wurden von der Fa. Dr. Franz Köhler Chemie, Alsbach/Bergstraße hergestellt und hatten folgende Zusammensetzung:

Stabilisator I

Lösung 1	31,56 g	Tri-Magnesiumcitrat
	14,40 g	Glucose-Hydrat
	9,60 g	Citronensäure
	1000 ml	
Lösung 2	60,00 g	Magnesium-L-Aspartat
	60,00 g	Kalium-L-Aspartat
	11,40 g	L-Histidinbase
	-	L-Histidinhydrochlorid
	1000 ml	

9,375 ml Lösung 1
6,250 ml Lösung 2

15,625 ml Stabilisator I

Der Stabilisator hatte nach Zusammenfügen der beiden Komponenten einen pH-Wert von 7,2.

Stabilisator II

18,93	g	Tri-Magnesiumcitrat
8,64	g	Glucosahydrat
5,76	g	Citronensäure
24,00	g	Magnesium-L-Aspartat
24,00	g	Kalium-L-Aspartat
6,08	g	L-Histidinbase
1,38	g	L-Histidinhydrochlorid

Aqua pro inj. ad 1000 ml

Die Stabilisatoren wurden beidesmal in 100 ml Glasfläschchen geliefert, wovon jedes 15,625 ml Stabilisator I bzw. II enthielt.
Die Stabilisatoren unterschieden sich also nur in der Histidinkonzentration: Stabilisator II enthielt die 1,65fache Konzentration von Stabilisator I.
Stabilisator I untersuchten wir selbst. Die Ergebnisse der Untersuchung des Stabilisator II wurden uns von Herrn Professor W. Heller zur Verfügung gestellt.

2. Gewinnung des Konservenblutes

Unser Versuchskollektiv bestand aus 30 stoffwechselgesunden Spendern: 19 Frauen und 11 Männern. Das Durchschnittsalter war 27 Jahre.
Von jedem Spender füllten wir ad 50 ml Venenblut in je 5 Konservierungsfläschchen. Bis zu ihrer Aufarbeitung wurden sie bei $+4^{\circ}$ C gelagert.

3. Probenahme

Wir untersuchten die Konserven an 5 Zeitpunkten: am Abnahmetag (Ab.T.), am 1., 7., 14. und 21.Tag. An jedem Untersuchungstag wurde ein neues Fläschchen eröffnet. Obwohl wir den Verlauf über 5 Zeitpunkte bestimmten,

konnten wir beim Vergleich nur 3 Zeitpunkte verwerten: den Abnahmetag, den 7. und 21.Tag, da bei den Versuchen mit Stabilisator II die Untersuchungen nur an 4 Tagen, und darunter eine am 3.Tag durchgeführt worden war. Die Blutwerte wurden am Abnahmetag nicht aus der Konserve, sondern direkt aus dem Venenblut bestimmt. Die 2,3-Diphosphoglyceratproben wurden nach Enteiweissung eingefroren und zu einem späteren Zeitpunkt bestimmt. Für die photochemischen Bestimmungen benutzten wir Geräte der Firma Zeiss.

4.1. Magnesium, Kupfer, Zink

Die quantitative Serumanalyse von Magnesium, Kupfer und Zink wurde mit Hilfe der Flammenatomabsorptionsspektrometrie durchgeführt. Die Lösungen stellte die Firma Merck her. Zur Messung verwendeten wir den Atomabsorptionsphotometer FMD 3 der Firma Zeiss.

Prinzip:

Zur Bestimmung dieser drei Elemente wird die Tatsache ausgenützt, daß jedes Element ein charakteristisches Absorptionsspektrum besitzt.
Die Absorptionslinien sind mit einigen der Emissionslinien identisch, d.h. ein gasförmiges Element absorbiert aus einer Lichtquelle Wellenlängen, die es in glühendem Zustand selber wieder emittiert.
In einer Hohlkathodenlampe wird nun das Emissionsspektrum eines Elementes durch elektrische Anregung seiner Atome erzeugt. (Mg: 570,4 nm; Cu: 324,8 nm; Zn: 427,7 nm) Diese Strahlung durchsetzt drei Mal die Flamme, in der das zu untersuchende Serum verdampft. Das darin enthaltene Element wird dabei in den atomaren Zustand überführt. In Abhängigkeit von der Wellenlänge, der Flammentemperatur, der Art und Konzentration des Elementes wird die Stahlung durch Absorption geschwächt. Sie fällt auf einen lichtelektrischen Empfänger, der die Intensität in ein elektrisches Signal umwandelt, das auf dem Anzeigegerät abgelesen werden kann.

Die Konzentration des untersuchten Elementes berechnet man aus dem Quotienten E, Extinktion der Flamme, die das Element enthält, und E_o, Extinktion der reinen Flamme. Die Flammenatomabsorption wird der Flammenatomemission vorgezogen, da sie das empfindlichere Verfahren ist.

Normalwerte:

Mg: 1,63 - 2,21 mg% = 1,34 - 1,82 mval/l
Cu: 79 - 156 µg% = 0,025 - 0,049 mval/l
Zn: 69 - 149 µg% = 0,021 - 0,046 mval/l

4.2. pH-Wert

Der pH-Wert wurde im Plasma bestimmt. Als Meßgerät verwendeten wir den Digitalmeter Digi 610, der vor Gebrauch mit Pufferlösungen von pH = 4,0 und pH = 6,88 geeicht wurde.

Prinzip:

Das Potential einer geeigneten Elektrodenkette ist ein Maß für die H-Ionenkonzentration der Lösung, in der sich die Elektroden befinden, und kann somit zur Bestimmung des pH-Wertes verwendet werden: Als Maßelektroden dienen Glaselektroden, an deren äußeren Schicht sich Potentialdifferenzen ausbilden, deren Größe vom pH-Unterschied zwischen der Meßlösung und der in der Elektrode enthaltenen Pufferlösung abhängt. Als Bezugselektroden dienen Kalomelelektroden, da sie ein vom pH der Meßlösung unabhängiges konstantes Potential aufweisen.
Die Nernstsche Gleichung beschreibt den Zusammenhang zwischen der Potentialdifferenz und der Ionenkonzentration:

$$E = E_o + \frac{2{,}203 \times R \times T}{n \times F} \times \lg \frac{[Ox]}{[Red]}$$

ΔE = gemessenes Potential
E_o = Konstante

R = Gaskonstante
T = Temperatur in ^{o}K
F = Faradaykonstante
[Ox] = Konzentration des oxidierten Teils des Redoxsystems
[Red] = Konzentration des reduzierten Teils des Redoxsystems

Für das Redoxpaar H_2O/H_3O^+ kann die Gleichung folgendermaßen vereinfacht werden:

$$\Delta E = 0{,}059 \times \lg [H_3O^+]$$

Da der pH-Wert gleich $-\lg[H_3O^+]$ ist, folgt:

$$\Delta E = - 0{,}059 \times pH$$

Normalwert im Blut: pH 7,36 - 7,44 (68)

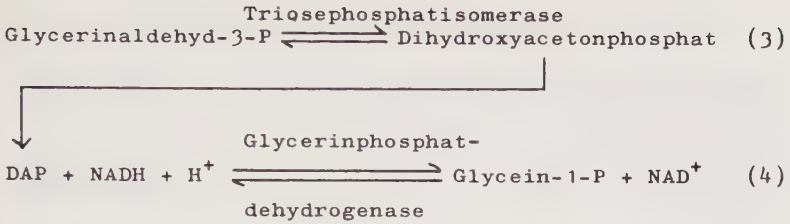
4.3. Enzymatische Bestimmung von ATP im Blut

Die Bestimmung erfolgte nach der von Th. Bücher beschriebenen Methode (12) mit Reagentien der Firma Boehringer Mannheim.

Prinzip:

$$\text{Glycerat-3-P} + \text{ATP} \xrightleftharpoons[\text{Kinase}]{\text{3-Phospgoglycerat-}} \text{Glycerat-1,3-P}_2 + \text{ATP} \quad (1)$$

$$\text{Glycerat-1,3-P}_2 + \text{NADH} + \text{H}^+ \xrightleftharpoons{\text{GAP-Dehydrogenase}} \text{Glycerinaldehyd-3-P} + \text{P} + \text{NAD}^+ \quad (2)$$



Das Gleichgewicht der Reaktion (1) liegt auf der linken Seite. Durch Glycerat-3-Phosphat-Überschuß und durch Abfangen des Produkts durch Reaktion (2) kann ATP vollständig umgesetzt werden.
Reaktion (2) verbraucht als Indikatorreaktion NADH äquivalent zur Glycerat-1,3-Diphosphat-Menge und damit zur ATP-Konzentration.
Durch Umwandlung des in Gleichung (2) entstandenen Glycerinaldehyd-3-Phosphats in Dihydroxyacetonphosphats (3) und dessen Umsetzung mit NADH in Gleichung (4) erhält man die doppelte Umsatzrate.

Probenahme und Enteiweißung

Frisch aus der Konserve entnommenes Blut wird sofort mit 0,6 N Perchlorsäure enteiweißt.
Ins Zentrifugenglas werden pipettiert:
4 ml eiskalte Perchlorsäure,
1 ml Blut
Es wird gut gemischt, 10 min bei 20 - 25 °C stehen gelassen und dann 10 min bei 3000 U/min zentrifugiert. Der Überstand wird sofort abgegossen. Er ist bei +4 °C 24 Stunden haltbar.

Bestimmungsansatz:

Die Messung erfolgt gegen Luft
Meßstrahlung 365 nm
Küvettendicke 1 cm
Temperatur 20 - 25 °C

in die Küvette pipettieren	
Puffer	2,00 ml
NADH	0,20 ml
Überstand nach Enteiweißung	0,20 ml
mischen, Extinktion E_1 ablesen	
Enzymsuspension	0,02 ml

mischen, 10 min abwarten, E_2 messen

Die Berechnung erfolgt nach der Formel:

$$c\ (mmol/l) = 8{,}627 \times \Delta E$$

wobei $\Delta E = E_1 - E_2$ ist.

Normalwert im Blut: 375 - 631 µmol/l

4.4. 2,3-Diphosphoglycerinsäure (2,3-DPG)

Die Bestimmung wird nach dem "Technical Bulletin Nr. 35-UV (12-74)" der Fa. Sigma, Saint Louis, Missouri, USA durchgeführt mit den von der gleichen Firma hergestellten Reagentien.

Prinzip:

$$\text{2,3-DPG} \xrightarrow{\text{2,3-DPG-Phosphatase + 2-PG}} \text{3-PG} + P_i$$

$$\text{3-PG + ATP} \xrightarrow[\text{(PGK)}]{\text{3-P-Glycerat-P-Kinase}} \text{1,3-DPG + ADP}$$

$$\text{1,3-DPG + NADH} \xrightarrow[\text{Dehydrogenase(GAPD)}]{\text{Glycerinaldehyd-3-P-}} \text{GAP + NAD}$$

2,3-DPG wird durch das Enzym 2,3-DPG-Phosphatase, enthalten in Phosphoglyceratmutase (PGM), zu 3-Phosphoglycerat (3-PG) und anorganischem Phosphat hydrolisiert. 2-Phosphoglycerat fördert diese Reaktion.
Gemessen wird die Extinktionsabnahme von NADH bei 340 nm. Sie ist der 2,3-DPG-Konzentration proportional.

Versuchsdurchführung:

1 ml konserviertes Venenblut wird in 3 ml 8 %ige Trichloressigsäure gegeben, kräftig gemischt, dann 5 Min. kühl gestellt. Nach dem Zentrifugieren (10 Min. bei 3000 Upm) werden die Überstände eingefroren.
Am Tag der Analyse werden sie aufgetaut und weiterverarbeitet.

Ansatz:

	Leerwert	Analyse
Puffer + NADH	2,50 ml	2,50 ml
ATP	0,10 ml	0,10 ml
Aqua bidest.	0,25 ml	-
Überstand	-	0,25 ml
mischen		
GAPD/PGK	0,02 ml	0,02 ml
PGM	0,02 ml	0,02 ml
mischen, 5 min. stehen lassen, E_1 von Leerwert und Analyse bei 340 nm gegen Wasser ablesen.		
Phosphoglycolic	0,10 ml	0,10 ml
mischen, 25 -30 min. bei Raumtemperatur stehen lassen, dann E_2 von Leerwert und Analyse bei 340 nm ablesen.		

Berechnung

$$c_{2,3\text{-DPG}} = E_{2,3\text{-DPG}} \times 7{,}7$$

$E_{2,3\text{-DPG}}$ berechnet sich aus $\Delta A - \Delta L$

ΔA = Analyse 1 - Analyse 2
ΔL = Leerwert 1 - Leerwert 2

Normalwert: 1,60 - 2,62 µmol/ml Vollblut

Bemerkung:
In der Versuchsanleitung der Fa. Sigma wird ausdrücklich gefordert, daß heparinisiertes Blut verwendet werden soll, weil nur in so behandeltem Blut 2,3-DPG für kurze Zeit und in eingefrorenem Zustand für einen Monat stabil sei.

Entgegen den Beobachtungen von Eaton und Brewer, daß ACD 2,3-DPG nicht adäquat konserviert, hat das Labor von Prof. Heller festgestellt,daß die 2,3-DPG-Konzentration nach mehr als einmonatigem Einfrieren nicht nennenswert abnimmt.
Außerdem wird angegeben, daß 0,6 µmol/ml 2,3-DPG der unterste verwertbare Meßwert seien, da bei geringeren Konzentrationen der Einfluß der Störgrößen und zufälligen Meßfehler zu groß werde. Wenn noch Meßwerte unter dieser Konzentration berücksichtigt worden sind, dann nur, um den Trend anzuzeigen.

4.5. Glucose

Die quantitative Glucosebestimmung erfolgte nach der GOD-Perid^{R}-Methode (74) mit der Test-Combination Glucose der Fa. Boehringer Mannheim.

Prinzip:

Das für die β-D-Glucose spezifische Enzym Glucoseoxidase oxidiert bei Anwesenheit von O_2 sein Substrat zu Gluconolacton. (Eventuell vorhandene α-D-Glucose wird durch eine Mutarotase in die β-Form überführt und ebenfalls erfaßt). In wässriger Lösung geht Gluconolacton in Gluconsäure und H_2O_2 über.

$$\text{Glucose} + O_2 + H_2O \xrightarrow{\text{GOD}} \text{Gluconsäure} + H_2O_2$$

Das in äquimolaren Mengen gebildete H_2O_2 reagiert unter Einwirkung der Peroxidase mit ABTS^{R} zu einer blaugrünen Verbindung, deren Intensität im Spektralphotometer bei 560 nm gemessen wird. Sie ist der Glugosekonzentration proportional.

$$H_2O_2 + \text{ABTS} \xrightarrow{\text{POD}} \text{Farbstoff} + H_2O_2$$

Versuchsdurchführung

0,2 ml Vollblut werden mit 2 ml 0,33 N $HClO_4$ enteiweißt. (In der Anleitung wird zur Enteiweißung URAC^R verwendet). Danach wird 10 min. bei 3000 Upm zentrifugiert. Der Überstand wird zur Bestimmung eingesetzt.

In Reagenzgläser werden pipettiert:

	Leerwert	Standard	Probe
dest. Wasser	0,2 ml	-	-
Standard	-	0,2 ml	-
Überstand nach Enteiweißung	-	-	0,2 ml
Puffer, POD, GOD, ABTS^R	5,0 ml	5,0 ml	5,0 ml

und 40 min. lang bei 20 - 25 °C inkubiert. Danach wird die Extinktion der Probe und die Extinktion des Standards im Spektralphotometer bei 560 nm gegen den Leerwert abgelesen.

Berechnung:

$$c\ (mmol/l) = 5{,}55 \times \frac{E_{Probe}}{E_{Standard}}$$

Normalwert: 3,89 - 5,55 mmol/l

4.6. Glucose-6-Phosphat (Glc-6-P) und Fructose-6-Phosphat (Frct-6-P)

Zur Bestimmung von D-Glucose-6-Phosphat und D-Fructose-6-Phosphat wurde die Methode von Gunter Lang und Gerhard Michal (in 6) gewählt. Die verwendeten Enzyme stellte die Fa. Boehringer Mannheim her.

Prinzip:

$$\text{Frct-6-P} \xrightleftharpoons{\text{P-Glucoisomerase}} \text{Glc-6-P}$$

$$\text{Glc-6-P} + \text{NADP} \xrightleftharpoons{\text{Glc-6-P-Dehydrogenase}} \text{6-P-Gluconolacton} + \text{NADPH}$$

$$\text{6-P-Gluconolacton} + H_2O \xrightarrow{\text{spontane Hydrolyse}} \text{6-P-Gluconat}$$

Die Extinktionszunahme von NADPH wird bei 340 nm fortlaufend gemessen.

Versuchsdurchführung:

Sie entspricht bis zum Ansatz genau dem Vorgehen wie bei der Bestimmung von Fructose-1,6-Diphosphat. Siehe dort. Die Lösungen werden in Küvetten (Schichtdicke 1 cm) pipettiert. Die Extinktion wird mit dem Spektralphotometer bei 340 nm fortlaufend gemessen.

Ansatz:

Puffer	1,00 ml
Probe	1,00 ml
NADP-Lösung	0,02 ml
$MgCl_2$-Lösung	0,02 ml
mischen, bestimmen von E_1	
Glc-6-P-DH-Suspension	0,01 ml
mischen, 20 Min. stehen lassen, E_2 messen. Danach Zugabe von	
PGI-Suspension	0,02 ml
mischen, 20 Min. stehen lassen, E_3 messen.	

Berechnung:

Für Glc-6-P: $E_2 - E_1 = \Delta E_{Glc\text{-}6\text{-}P}$

$c = \Delta E \times 0{,}336 \times 8480$ nmol/ml

Für Frct-6-P: $E_3 - E_2 = \Delta E_{Frct\text{-}6\text{-}P}$

$c = \Delta E \times 0{,}333 \times 8480$ nmol/ml

Normalwerte:

Für Glc-6-P : in µmol/l

	$\bar{x}$	s
Nach Oski, F.A. (18)	24,8	9,8
Nach Busch et al. (18)	21 (9-33)	
Nach Niessner u. Beutler (18)	27,8	7,5
→ Labor Prof. Heller	22,4	7,6

Für Frct-6-P : in µmol/l

	$\bar{x}$	s
Nach Oski, F.A. (18)	5,4	1,0
Nach Busch et al. (18)	8 (1-15)	
Nach Niessner u. Beutler (18)	9,3	2,0
→ Labor Prof. Heller	9,88	7,7

→ bezeichnet den in der Graphik verwendeten Normalwert, wenn in der Literatur mehrere angegeben sind.

4.7. Fructose-1,6-Diphosphat (Frct-1,6-P_2) , Dihydroxyacetonphosphat (DAP) , D-Glycerinaldehyd-3-Phosphat (GAP)

Zur Bestimmung von Frct-1,6-P_2, GAP und DAP diente die Methode von Gerhard Lang und Hans-Otto Beutler (in 6). Die verwendeten Enzyme wurden von der Fa. Boehringer Mannheim hergestellt.

Prinzip:

Die drei Substanzen werden nacheinander in enzymatischen Reaktionen quantitativ bestimmt. Gemessen wird die abnehmende Extinktion von NADH im Spektralphotometer bei 340 nm.
Im Test wird zuerst DAP bestimmt:

$$\text{DAP} + \text{NADH} \xrightleftharpoons{\text{Glycerin-3-P-Dehydrogenase}} \text{L-Glycerin-3-P} + \text{NAD}$$

$$\text{GAP} \xrightleftharpoons{\text{Triosephosphatisomerase}} \text{DAP}$$

$$\text{Frct-1,6-P}_2 \xrightleftharpoons{\text{Aldolase}} \text{DAP} + \text{GAP}$$

Nach Kopplung der Reaktionen ergibt sich die Gleichung:

$$\text{Frct-1,6-P}_2 + 2\ \text{NADH} + 2\ \text{H}^+ \rightleftharpoons 2\ \text{Glycerin-3-P} + 2\ \text{NAD}^+$$

Das Gleichgewicht liegt mit $K' = 5{,}48 \times 10^5$ Mol/l weit auf der rechten Seite.

Versuchsdurchführung

Es werden zwei Abwandlungen vorgenommen:

1) Das in der Beschreibung angegebene Wiegen der Zentrifugengläser vor und nach Zugabe des Blutes wird nicht mehr gemacht, da sich herausgestellt hat, daß die Differenzen zu gering sind.
2) Nach dem Stehen im Eisbad wird nochmals 10 Min. bei 5000 Upm zentrifugiert, damit der Überstand sicher klar ist.

1 ml des mit Konservierungsmittel versetzten Venenblutes wird in ein Reagenzglas mit 5 ml 0,6 N $HClO_4$ gegeben und sofort gemischt. Nach 10 Min. langem Zentrifugieren bei 3000 Upm wird der Überstand in ein Reagenzglas gegossen. Das Sediment wird mit 1 ml eiskalter Perchlorsäure + 1 ml Aqua bidest. aufgewirbelt und erneut 10 Min. bei 5000 Upm zentrifugiert. Die Überstände werden vereinigt und mit K_2CO_3 auf pH 3,5 eingestellt. Danach wird auf 8 ml Endvolumen aufgefüllt. Nach 15 Min. im Eisbad wird 10 Min. bei 5000 Upm zentrifugiert. Der Überstand wird zur Messung eingesetzt.

Ansatz:

Puffer	1,50 ml
Probe	1,50 ml
NADH-Lösung	0,01 ml
mischen, E_1 messen	
GDH-Suspension	0,01 ml
mischen, nach 6 Min. E_2 messen	
TIM-Suspension	0,01 ml
mischen, nach 6 Min. E_3 messen	
Aldolase-Suspension	0,01 ml
mischen, nach 6 Min. E_4 messen	

Berechnung:

Für DAP: $E_1 - E_2 = \Delta E_{DAP}$

$c = \Delta E \times 0{,}321 \times 8480$ nmol/ml

Für GAP: $E_2 - E_3 = \Delta E_{GAP}$

$c = \Delta E \times 0{,}325 \times 8480$ nmol/ml

Für Frct-1,6-P_2: $E_3 - E_4 = \Delta E_{Frct\text{-}1,6\text{-}P_2}$

$c = \Delta E \times 0{,}163 \times 8480$ nmol/ml

Normalwerte:

Für GAP: in µmol/l

Nach Oski, F.A. (18) $\bar{x} = 2{,}6$ $s = 0{,}7$

Für DAP : in µmol/l

	$\bar{x}$	s
Nach Oski, F.A. (18)	4,9	3,5
Nach Niessner u. Beutler (18)	9,4	2,8
→ LaborProf. Heller in Brückner (10)	15,3	

Für Frct-1,6-P_2 : in µmol/l

	$\bar{x}$	s
Nach Oski,F.A. (18)	4,6	1,0
Nach Busch et al. (18)	15 (6-24)	
Nach Niessner u. Beutler (18)	1,9	0,6
→ Labor Prof. Heller in Brückner (10)	6,4	

4.8. Phosphoenolpyruvat (PEP) und 2-Phosphoglycerat (2-PG)

Zur Bestimmung von PEP und 2-PG wurde die Methode von Rudolf Czok und Walter Lamprecht (in 6) in abgeänderter Form verwendet.

Geändert wurden folgende Punkte:

1) Zur Enteiweißung kam nur die Hälfte der in der Beschreibung angegebenen Volumina.
2) Der Ansatz wurde verdoppelt.

Die Enzyme stellte die Fa. Boehringer Mannheim her.

Prinzip:

$$2\text{-PG} \xrightleftharpoons{\text{Enolase}} \text{PEP} + H_2O$$

$$\text{PEP} + \text{ADP} \xrightleftharpoons{\text{Pyruvatkinase (PK)}} \text{ATP} + \text{Pyruvat}$$

$$\text{Pyruvat} + \text{NADH} \xrightleftharpoons{\text{Lactatdehydrogenase (LDH)}} \text{Lactat} + \text{NAD}$$

Gemessen wird die Extinktionsabnahme des NADH bei 340 nm, die den Substratumsätzen proportional ist.

Herstellung des Reagentienmix für 10 Messungen bei doppeltem Ansatz:

12 ml	Puffer
400 µl	NADH
400 µl	LDH
200 µl	ADP
400 µl	$MgSO_4$
100 µl	KCl

Versuchsdurchführung

Zu 3 ml 0,6 N $HClO_4$ gibt man 1 ml Blut, mischt gut und zentrifugiert 10 Min. bei 3000 Upm. 2 ml Überstand werden unter Eiskühlung und gutem Mischen mit 2 N KOH auf pH 3,5 eingestellt. Nach 10 Min. Stehen im Eis wird nochmals 10 Min. bei 5000 Upm zentrifugiert. Der Überstand wird zur Messung eingesetzt.
Die Messung erfolgt gegen Luft.

Ansatz:

Reagentienmix	1,340 ml
Probe	0,800 ml
mischen, E_3 messen	
PK	0,040 ml
mischen, E_4 messen	
Enolase	0,040 ml
mischen, E_5 messen.	

Berechnung:

PEP : $E_3 - E_4 = \Delta E_{PEP}$

$c = 2{,}04 \times \Delta E_{PEP}$ µmol/ml

2-PG : $E_4 - E_5 = \Delta E_{2\text{-}PG}$

$c = 2{,}08 \times \Delta E_{2\text{-}PG}$ µmol/ml

Normalwerte:

Für PEP : in µmol/l

	$\bar{x}$	s
Nach Oski, F.A. (18)	8,8	2,6
Nach Busch et al. (18)	21 (9-33)	
→ Nach Niessner u. Beutler (18)	12,2	2,2

Für 2-PG: in µmol/l

	$\bar{x}$	s
Nach Oski, F.A. (18)	4,3	1,8
Nach Busch et al. (18)	30 (10-50)	
→ Nach Niessner u. Beutler (18)	7,3	2,5

4.9. Enzymatische Bestimmung von Pyruvat im Blut

Es wurde die von Czok, R. und W. Lamprecht beschriebene Methode verwendet (in 6) und die Reagentien der Test-Combination der Fa. Boehringer Mannheim.

Prinzip:

Pyruvat wird durch NADH in der von Lactat-Dehydrogenase katalysierten Reaktion zu L-Lactat reduziert.

$$\text{Pyruvat} + \text{NADH} + \text{H}^+ \xrightleftharpoons{\text{LDH}} \text{L-Lactat} + \text{NAD}^+$$

Das Gleichgewicht der Reaktion liegt auf der Seite von L-Lactat und NAD^+.
Die verbrauchte NADH-Menge ist der Pyruvat-Menge äquivalent und wird durch die Extinktionsabnahme bei Hg 365 nm gemessen.

Versuchsdurchführung

1,5 ml frisch aus der Konserve entnommenes Blut wird sofort mit 3,0 ml ca. 1,0 N eiskalter Perchlorsäure enteiweißt, gut gemischt und dann 10 Min. bei 3000 Upm zentrifugiert.
Danach werden 2,0 ml des Überstandes und 1,0 ml der Lösung 1 in ein Reagenzglas pipettiert, gemischt und ca. 15 Min. in Eiswasser stehen gelassen. Anschließend wird 10 Min. bei 3000 Upm zentrifugiert und der Überstand sofort abgegossen. Der Überstand ist bei +4 °C ca. 24 Stunden haltbar.
Im Gegensatz zu der in der Anleitung empfohlenen Enteiweißung im Verhältnis 1:1 haben wir ein Verhältnis von 2:1 gewählt, nachdem wir festgestellt hatten, daß der Pyruvatgehalt der Konserven so hoch war, daß bei der Verdünnung von 1:1 die Extinktionsänderung vom Kurvenschreiber nicht mehr erfaßt wurde.

Ansatz:

Die Messung im Spektralphotometer erfolgt gegen Luft.

In die Küvette wird pipettiert:

Überstand	2,00 ml
NADH	0,20 ml
mischen, E_1 messen	
LDH	0,02 ml

mischen, nach Stillstand der Reaktion (ca. 5 Min.) E_2 messen.

Berechnung:

$E_1 - E_2 = \Delta E$

$$c = \frac{E \times \text{Testvolumen}}{\text{Probevolumen} \times \varepsilon \times d} \times F \qquad \text{wobei } F = 2$$

daraus folgt: $c\ (\text{mol/l}) = \Delta E \times 1810$

Normalwert: 41 - 67 mol/l = 0,041 - 0,067 mmol/l

Nach Tsirimbas und Stich (18):

$0{,}073 \pm 0{,}022$ mmol/l

4.10. Enzymetrische Lactatbestimmung im Blut

Die Bestimmung erfolgte modifiziert nach der von F. Noll beschriebenen Methode (in 6). Die notwendigen Reagentien stellte die Firma Boehringer, Mannheim her.

Prinzip

L-Lactat wird mittels NAD^+ und LDH zu Pyruvat dehydriert. Da das Gleichgewicht dieser Reaktion auf der Seite der Lactate liegt, wird anschließend das entstandene Pyruvat in einer Transaminierungsreaktion mittels Glutamat-Pyruvat-Transaminase dem Reaktionsgemisch entzogen.

$$\text{L-Lactat} + NAD^+ \xrightleftharpoons{\text{LDH}} \text{Pyruvat} + NADH + H^+$$

$$\text{Pyruvat} + \text{L-Glutamat} \xrightleftharpoons{\text{GPT}} \text{L-Alanin} + \alpha\text{-Ketoglutarat}$$

Die NADH-Zunahme, gemessen an der Extinktionsänderung, ist der L-Lactat-Konzentration direkt proportional.

Versuchsdurchführung

Zur Plasmagewinnung werden 2 ml Blut mit 2 Tropfen Fluorid/EDTA gemischt. (Es erfolgt keine Enteiweißung). Bei 3000 Upm wird es 5 Min. zentrifugiert, danach das überstehende Plasma abgetrennt.
Die Extinktionsmessung im Spektralphotometer erfolgt bei 340 nm gegen Luft.

Ansatz:
Zur Reagenzlösung in Flasche 1 pipettiert man

	Probenleerwert	Probe
Plasma	0,05 ml	--
gut mischen		
aus dem Probenleerwert abpipettieren	--	2,50 ml
LDH/GPT-Suspension	--	0,05 ml
dest. Wasser	0,05 ml	--

sofort mischen, nach 10 Min. die Extinktion des Probenleerwertes E_{PL} und die Extinktion der Probe E_p in derselben Küvette unmittelbar hintereinander messen.

Berechnung:

Da die Verdünnung der Probe durch 2 Tropfen Fluorid/EDTA vernachlässigt werden kann, ergibt sich

$$c = \frac{E \times \text{Testvolumen (2,55 ml)}}{\text{Probevolumen} \times \varepsilon \times d}$$

$$c\ (\text{mmol/l}) = 16{,}3 \times \Delta E \qquad \text{wobei } \Delta E = E_p - E_{PL}$$

Normalwerte in Plasma: 0,63 - 2,44 mmol/l

Bemerkung:

Um die Lactat-Ergebnisse vergleichen zu können, mußte zuerst noch ein Vergleich der Testverfahren durchgeführt werden, da Foth (23) Lactat mit dem Comitest bestimmt hatte, wir aber den Monotest benutzten. Die Umrechnung der Werte von Stab II erfolgte dann nach der Gleichung
$y = 1{,}333\ x - 0{,}316$. (vgl. Groß (28)

5. Statistisches Testverfahren

Zur statistischen Auswertung der Ergebnisse wandten wir das Testverfahren der multivariaten Varianzanalyse an. In diesem Testverfahren wird angenommen, daß sich die Variablen gegenseitig beeinflussen und voneinander abhängen. Das Signifikanzniveau beträgt 5 %, die Sicherheitswahrscheinlichkeit damit 95 %.

Zuerst wird die Nullhypothese überprüft, ob die Mittelwertsvektoren der beiden Gruppen gleich sind. Die darauffolgende Scheffé-Prozedur untersucht, welche der 3 Variablen zur Gleichheit oder zum Unterschied beitragen. Dies geschieht durch Bilden von Konfidenzintervallen über die Differenzen der jeweiligen Variablen beider Gruppen. (Entscheidend ist dabei, ob die Null im Intervall liegt. Sind die Vorzeichen eines Intervalls gleich, ergeben die Differenzen aus Gruppe 1 und 2 also nicht Null, so unterscheiden sie sich signifikant).
Im mulivariaten Profilvergleich wird die Parallelität der Mittelwertsvektoren untersucht, ebenfalls auf dem 5 % Signifikanzniveau. Dazu werden die Mittelwerte der Differenzen vom 7. und Abnahmetag und vom 21. und 7. Tag der ursprünglichen Variablen herangezogen. In der darauffolgenden Scheffé-Prozedur wird wieder untersucht, welche der verglichenen Variablendifferenzen zur Parallelität bzw. Nichtparallelität beitragen.
Parallelität im Kurvenverlauf bedeutet, daß bei der Untersuchung auf beide Gruppen die gleichen Faktoren einwirken.

Nicht-Parallelität bedeutet, daß bei den einzelnen Gruppen verschiedene oder zusätzliche Faktoren beteiligt sind. Bei parallelem Kurvenverlauf ist anzunehmen, daß die Kurven aller Histidinkonzentrationen parallel verlaufen würden.

Der Equal-Response-Test untersucht das Verhalten der Variablen innerhalb einer Gruppe.

Voraussetzung für die Anwendung des Testverfahrens der Multivariaten Varianzanalyse ist die Normalverteilung der Standardabweichungen. Obwohl diese Voraussetzung nicht gegeben war, wandten wir dieses Testverfahren an, weil kein geeigneterer Test zur Verfügung stand. Es wird deshalb nicht der absolute Betrag des Signifikanzniveaus angegeben, sondern nur entweder
$p < 5$ %, wenn ein signifikanter Unterschied besteht, oder
$p > 5$ %, wenn kein signifikanter Unterschied besteht.

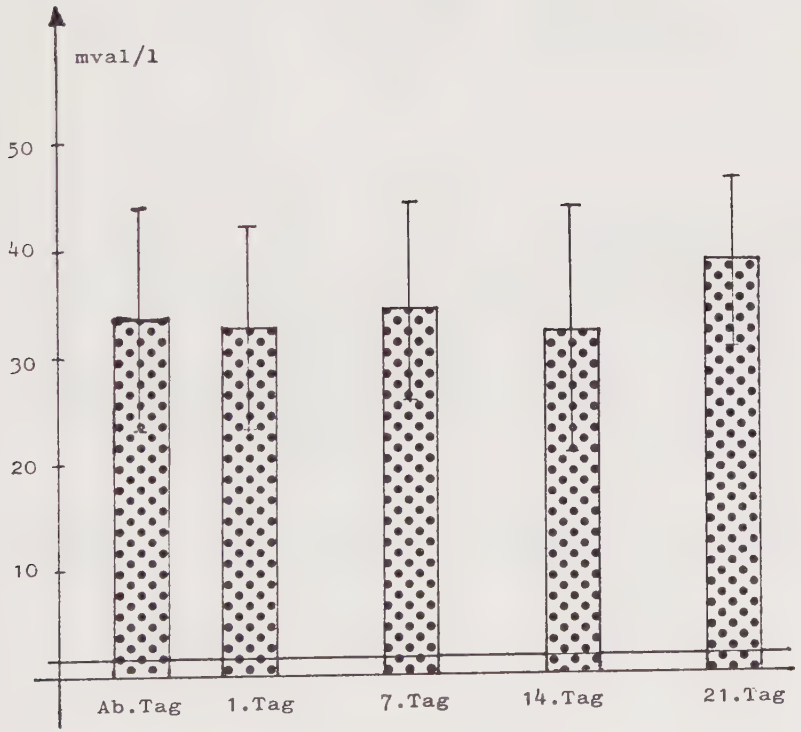
Zeichenerklärung:

n = Probenanzahl
s = Standardabweichung
$\bar{x}$ = Mittelwert
u = signifikanter Unterschied der Variablen mit $p<0,05$
k = kein signifikanter Unterschied der Variablen mit $p>0,05$
Ab.Tag = 1. Bestimmungszeitpunkt am Tag der Blutabnahme

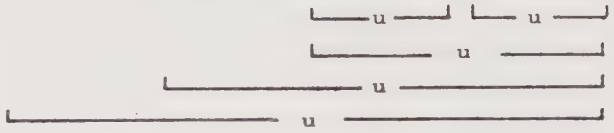
III ERGEBNISSE MIT GRAPHISCHER DARSTELLUNG

Der Einfachheit halber wird der von uns untersuchte Stabilisator als Stab I bezeichnet, der Stabilisator mit höherer Histidinkonzentration als Stab II.

1. Magnesium (Mg in mval/l)



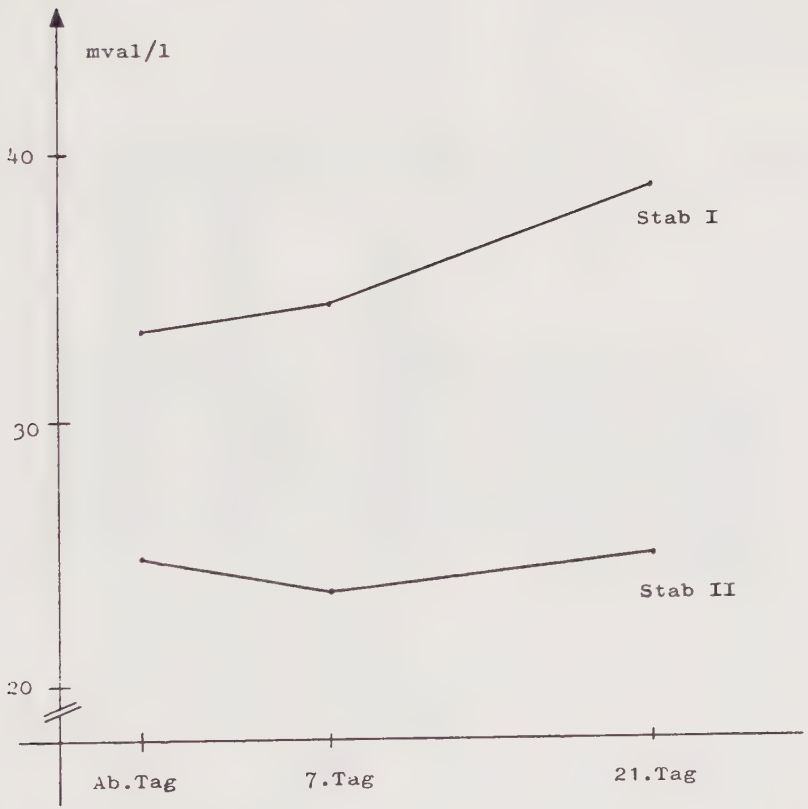
	Ab.Tag	1.Tag	7.Tag	14.Tag	21.Tag
n	30	30	30	30	30
s	10,44	9,25	9,66	11,44	8,50
$\bar{x}$	33,48	32,81	34,40	32,05	38,79



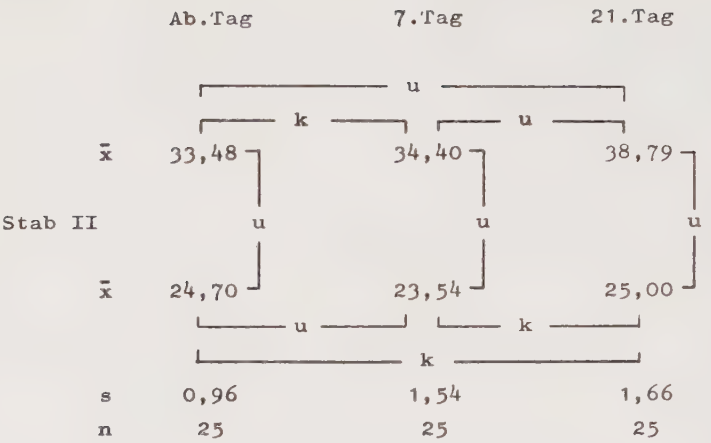
k Ab.T./1.Tag; 1.Tag/7.Tag
Ab.T./7.Tag; 1.Tag/14.Tag
Ab.T./14.Tag;

Die Mittelwerte unterscheiden sich im Globaltest mit $p < 0,05$ signifikant.
Die Mg-Konzentration ändert sich vom Abnahmetag mit einem Ausgangswert von 33,48 mval/l, am 1.Tag mit 32,81 mval/l bis zum 7.Tag mit 34,40 mval/l statistisch nicht. Am 14.Tag sinkt sie statistisch signifikant auf 32,05 mval/l um 6,83 % ab, um am 21.Tag um 21 % auf 38,79 mval/l anzusteigen. Das bedeutet eine statistisch signifikante Konzentrationszunahme um 15,85 % gegenüber dem Ausgangswert am Abnahmetag.
Alle Mittelwerte liegen etwa das 20fache über der Norm.

2. Vergleich: Magnesium (mval/l)



Stab I



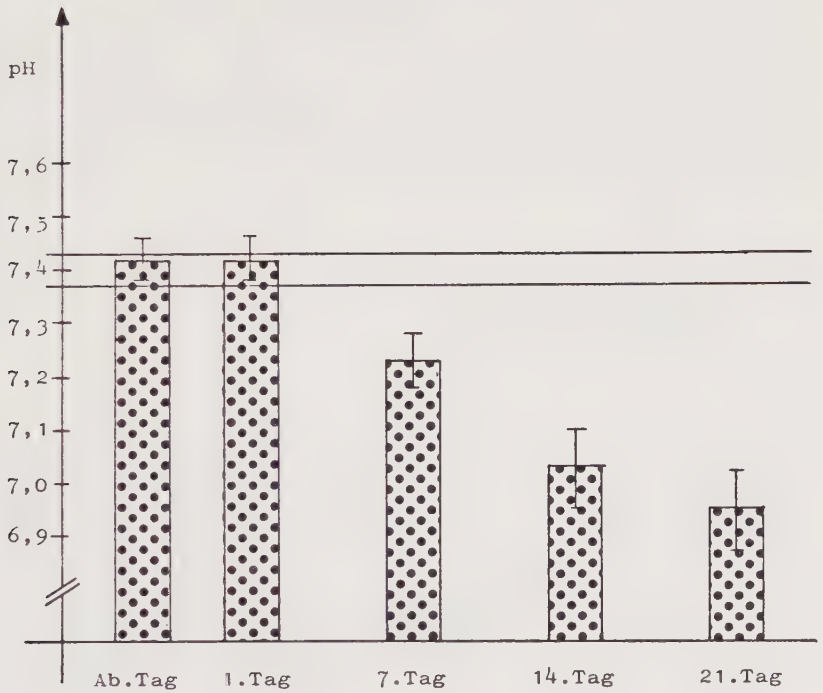
Die einfache multivariate Varianzanalyse ergibt,daß sich die Mittelwertsvektoren der beiden Gruppen mit $p < 0,05$ signifikant unterscheiden. Alle Variablen tragen zu dieser Signifikanz bei. Am Abnahmetag beträgt die Differenz 8,8 E, am 7.Tag 10,9 E und am 21.Tag 13,8 E. Die Durchschnittswerte liegen damit in Stab I durchweg höher als in Stab II.

Paralleler Kurvenverlauf wird mit $p < 0,05$ abgelehnt. Ein signifikanter Unterschied zeigt sich jedoch nur vom 7. zum 21.Tag, während die Kurvenverläufe vom Abnahmetag bis zum 7.Tag als parallel angesehen werden. Die Nichtparallelität ist bedingt durch den signifikanten Anstieg vom 7. zum 21.Tag in Stab I.

In den Equal-Response-Tests zeigt sich aber, daß der Abfall der Mg-Konzentration in Stab II vom Ab.Tag zum 7.Tag auch signifikant ist. Im Stab I ergibt sich in diesem Zeitraum keine signifikante Veränderung.

In Stab I ist der Anstieg vom Ab.Tag zum 21.Tag mit 5,3 mval/l signifikant. In Stab II besteht zwischen der Mg-Konzentration am Ab.Tag und am 21.Tag kein signifikanter Unterschied.

3. pH



	Ab.Tag	1.Tag	7.Tag	14.Tag	21.Tag
n	24	24	24	24	24
s	0,034	0,038	0,053	0,075	0,076
$\bar{x}$	7,42	7,42	7,23	7,03	6,95
	k				

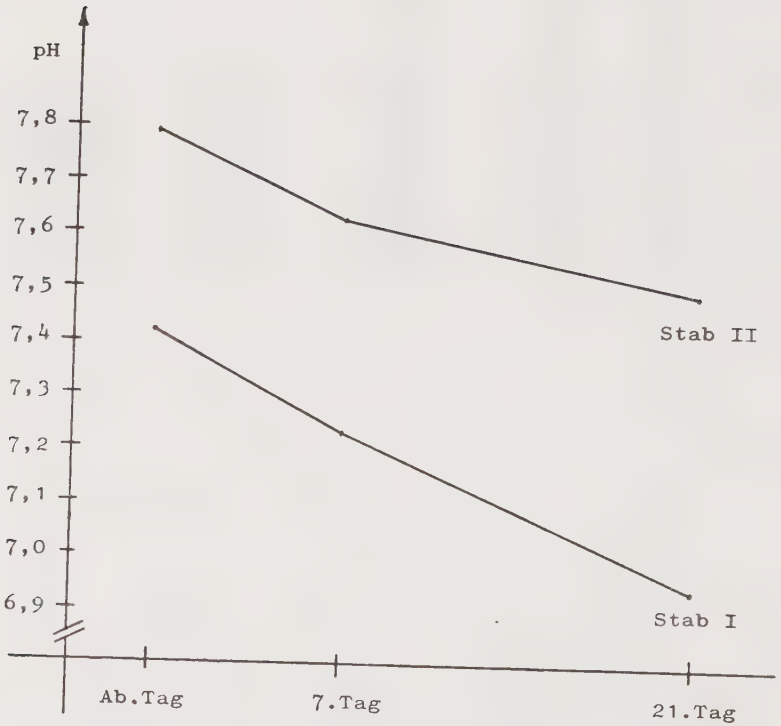
u besteht zwischen allen anderen Zeitpunkten

Die Nullhypothese wird im Globaltest mit p 0,05 abgelehnt.

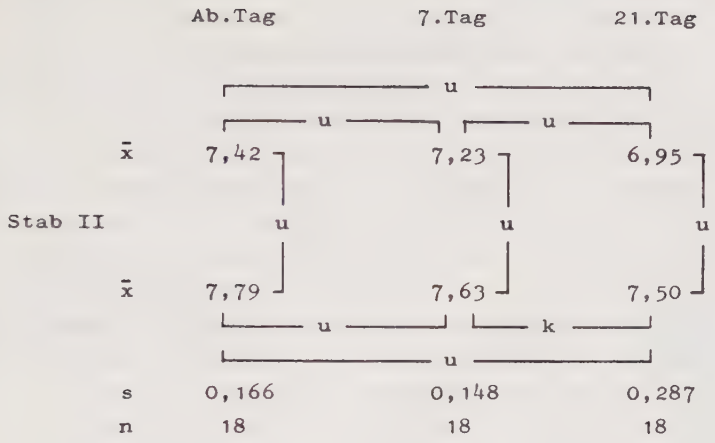
Nur innerhalb des 1.Tages bleibt der pH auf 7,42 konstant. Dann erfolgt ein steiles, jeweils signifikantes, Absinken: Zum 7.Tag hin auf pH 7,23, zum 14.Tag auf pH 7,03 und zum 21.Tag auf pH 6,95.

Vom Abnahmetag zum 21.Tag ist der pH-Wert um 0,4 E abgesunken. Außer am Ab.Tag und am 1.Tag liegen alle Mittelwerte im unphysiologisch sauren Bereich.

4. Vergleich: pH-Wert

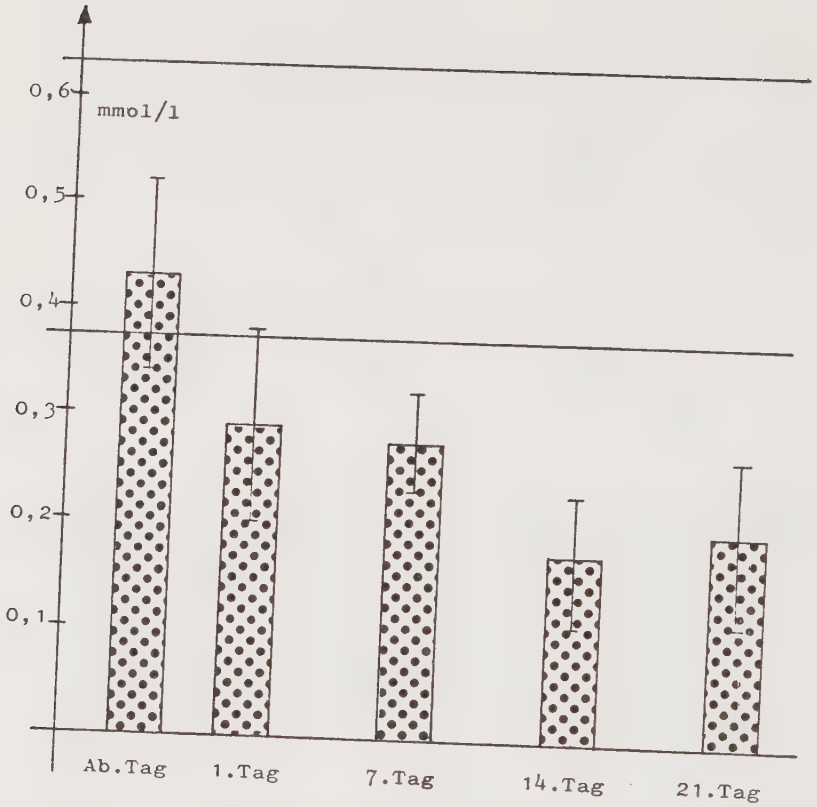


Stab I



Die multivariate Varianzanalyse ergibt,daß sich die Mittelwertsvektoren mit $p < 0,05$ signifikant unterscheiden. Sie unterscheiden sich an allen Tagen signifikant.
Am Ab.Tag liegen die Mittelwerte in Stab I um 0,37 E, am 7.Tag um 0,4 E und am 21.Tag um 0,55 E niedriger.
Parallelität der Kurven wird abgelehnt. Die Nichtparallelität ist aber so gering, daß im Scheffé-Test nicht mehr gesagt werden kann, welcher der Streckenabschnitte zur Nichtparallelität beiträgt.
In den 21 Tagen fällt der pH in Stab I schneller ab als in Stab II: in Stab I um 0,47 E von pH 7,42 auf pH 6,95, in Stab II um 0,29 E von pH 7,79 auf pH 7,5. Der Abfall ist beidesmal signifikant. Ebenso signifikant ist in Stab I der Abfall vom Ab.Tag zum 7.Tag auf pH 7,23 und vom 7. zum 21.Tag. In Stab II ist der Abfall vom Ab.Tag zum 7.Tag auf pH 7,63 signifikant, der vom 7. zum 21.Tag jedoch nicht.
Der pH-Wert liegt am Ab.Tag in Stab I im Normbereich, in Stab II liegt er immer darüber.

5. ATP (mmol/l)

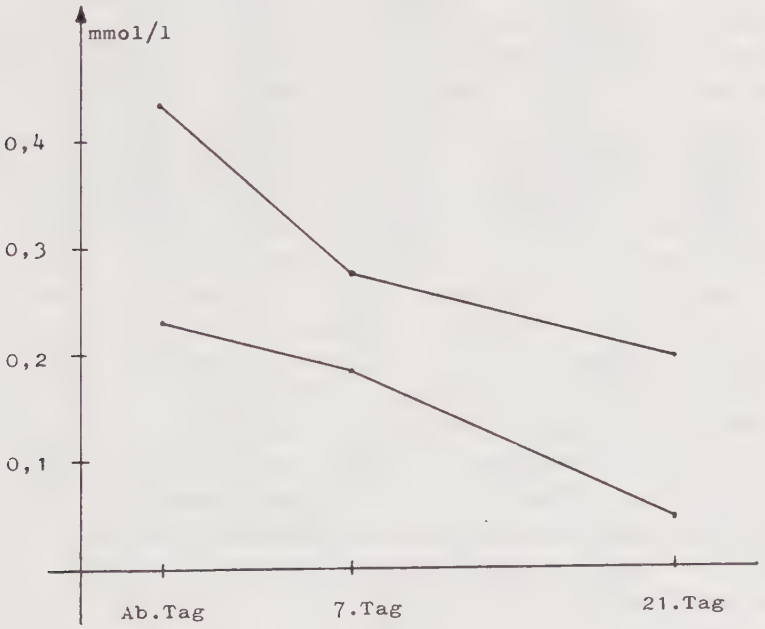


	Ab.Tag	1.Tag	7.Tag	14.Tag	21.Tag
n	30	30	30	30	30
s	0,090	0,089	0,046	0,055	0,072
$\bar{x}$	0,434	0,290	0,276	0,174	0,196
		k		k	

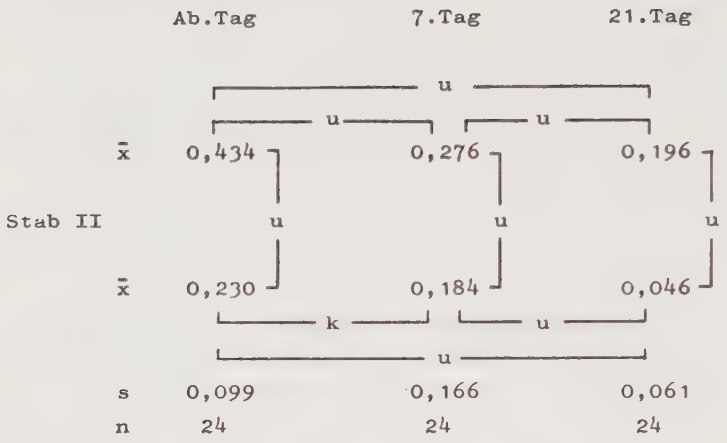
u besteht zwischen allen anderen Meßzeitpunkten

Die Nullhypothese der einfachen Varianzanalyse, die Gleichheit an den verschiedenenZeitpunkten annimmt,wird mit p 0,05 abgelehnt. Innerhalb des 1. Tages fällt die ATP-Konzentration von 0,434 mmol/l auf 0,29 mmOl/l signifikant ab. Das entspricht einer Abnahme um 33,34 %. Vom 1. zum 7.Tag erfolgt mit der Abnahme auf o,276 mmol/l keine statistisch signifikante Konzentrationsänderung. Vom 7. zum 14.Tag fällt sie jedoch weiter um 37,2 % auf 0,174 mmol/l ab. Zum 21.Tag hin erfolgt ein leichter Konzentrationsanstieg auf 0,196 mmol/l, der aber nicht signifikant ist.
Insgesamt fällt ATP, das nur am Abnahmetag im Normalbereich liegt, in den 3 Wochen um 55 % ab.

6. Vergleich: ATP

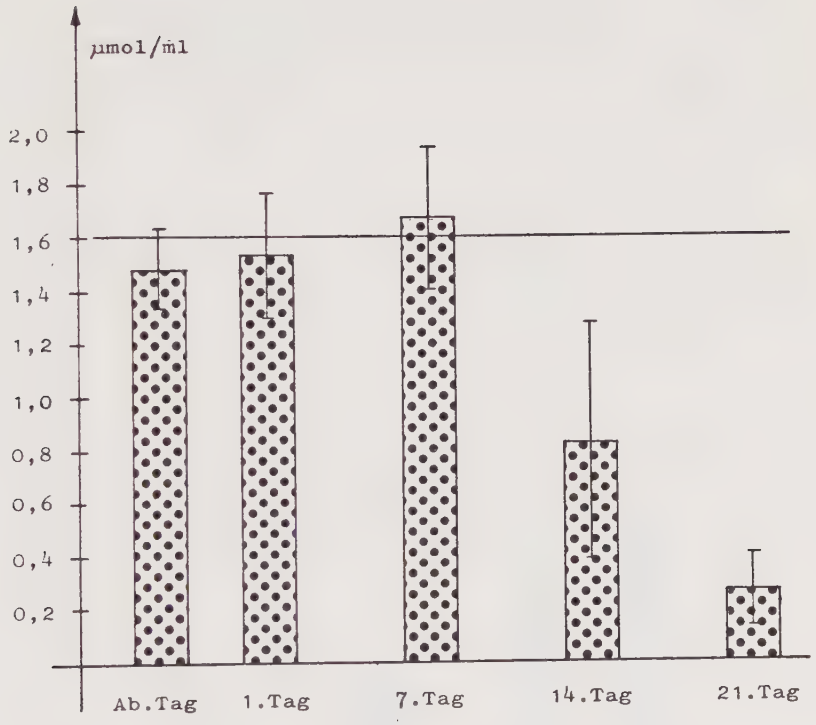


Stab I



Die Mittelwerte der beiden Stabilisatoren unterscheiden sich an den jeweiligen Tagen signifikant. Am Ab.Tag liegt die ATP-Konzentration um 47,1 %, am 7.Tag um 33,4 % und am 21.Tag um 77 % über der Konzentration in Stab II. Mit $p < 0,05$ wird paralleler Verlauf der Kurven abgelehnt. Nach dem Equal-Response-Test ist der signifikante Abfall vom Ab.Tag zum 7.Tag von 0,434 mmol/l auf 0,276 mmol/l dafür verantwortlich. Das entspricht einer Konzentrationsabnahme um 36,5 %. Der ATP-Abfall vom 7. zum 21.Tag wird in beiden Stabilisatoren als gleich steil angenommen. Er ist in beiden Stabilisatoren signifikant: in Stab I nimmt er um 29 % von 0,276 mmol/l auf 0,196 mmol/l ab, in Stab II um 75 % von 0,184 mmol/l auf 0,046 mmol/l. Die Konzentrationsabnahme um 20 % vom Ab.Tag zum 7.Tag von 0,23 mmol/l auf 0,184 mmol/l in Stab II ist nicht signifikant. Insgesamt fällt ATP über den Zeitraum von 3 Wochen in Stab I um 55 %, in Stab II um 80 % gegenüber dem Ausgangswert ab.

7. 2,3-Diphosphoglycerinsäure (µmol/ml)

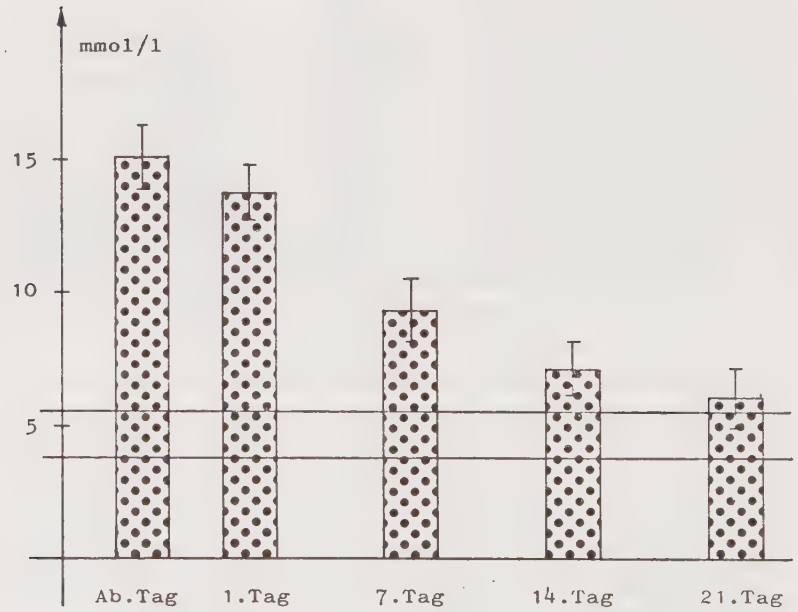


	Ab.Tag	1.Tag	7.Tag	14.Tag	21.Tag
n	30	30	30	30	30
s	0,153	0,244	0,270	0,450	0,140
$\bar{x}$	1,48	1,53	1,67	0,83	0,26
	k		k		

u besteht zwischen allen anderen Meßzeitpunkten

Die Nullhypothese wird im Globaltest mit $p < 0,05$ abgelehnt. Vom Ab.Tag zum 1.Tag ist bei einem Anstieg von 1,48 µmol/ml auf 1,53 µmol/ml statistisch keine Veränderung feststellbar. Auch der weitere Anstieg auf 1,67 µmol/ml ist statistisch nicht signifikant. Danach fällt 2,3-DPG steil ab: am 14.Tag um 50,22 % auf 0,83 µmol/ml und am 21.Tag um weitere 68,67 % auf 0,26 µmol/ml. Am 21.Tag ist die 2,3-DPG-Konzentration um 82,67 % gegenüber dem Ausgangswert abgefallen.

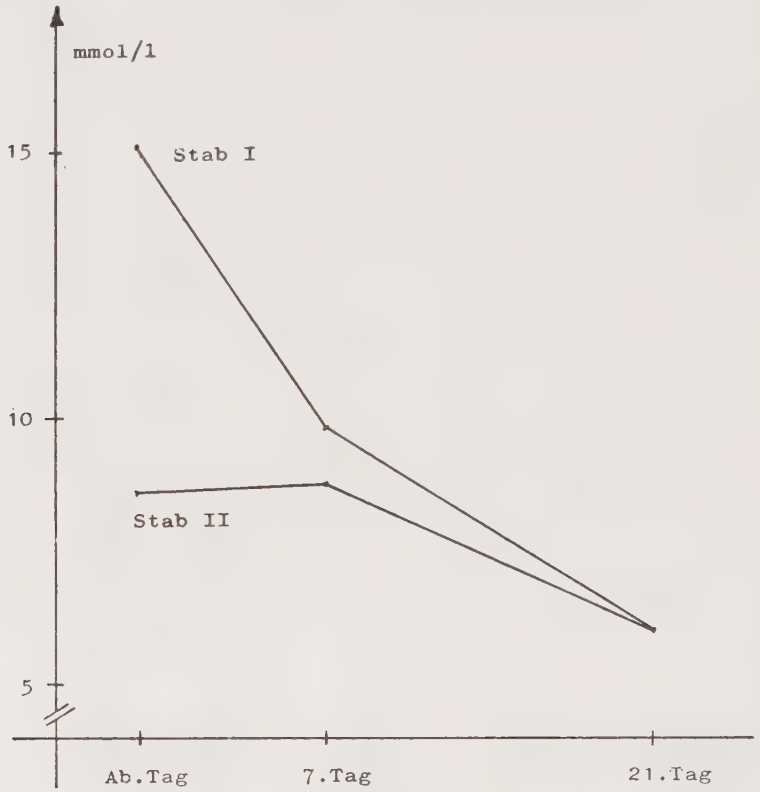
8. Glucose (mmol/l)



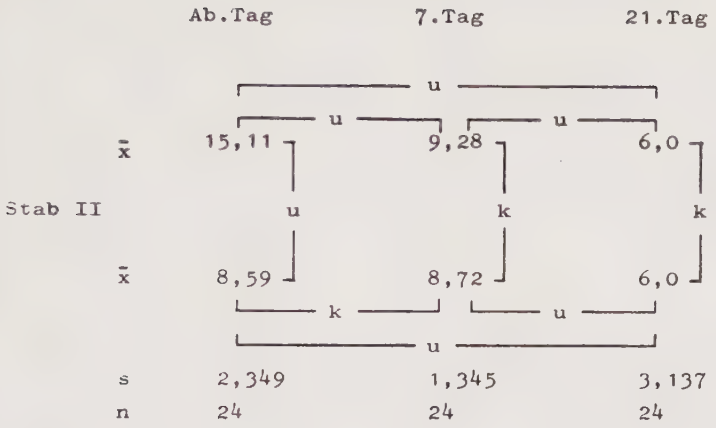
	Ab.Tag	1.Tag	7.Tag	14.Tag	21.Tag
n	30	30	30	30	30
s	1,156	1,012	0,176	0,941	1,089
$\bar{x}$	15,11	13,78	9,28	7,1	6,0
u	besteht zwischen allen Meßzeitpunkten				

Das Ergebnis der Varianzanalyse besagt,daß sich die Mittelwerte an den 5 Meßzeitpunkten signifikant unterscheiden. Der Scheffé-Test zeigt dann, daß an allen Tagen signifikante Unterschiede bestehen.
Vom Abnahmetag zum 1.Tag geht die Glucosekonzentration um 8,78 % von 15,11 mmol/l auf 13,78 mmol/l zurück. Vom 1. zum 7.Tag ist ein stärkerer Konzentrationsabfall um 32,66 % auf 9,28 mmol/l zu verzeichnen, vom 7. zum 14.Tag ein Abfall um 23,5 % auf 7,1 mmol/l und vom 14. zum 21.Tag ein Abfall um 15 % auf 6,0 mmol/l.
Die Glucosekonzentration nimmt insgesamt um 60 % ab.
Alle Mittelwerte liegen über den Normalwerten.

9. Vergleich: Glucose

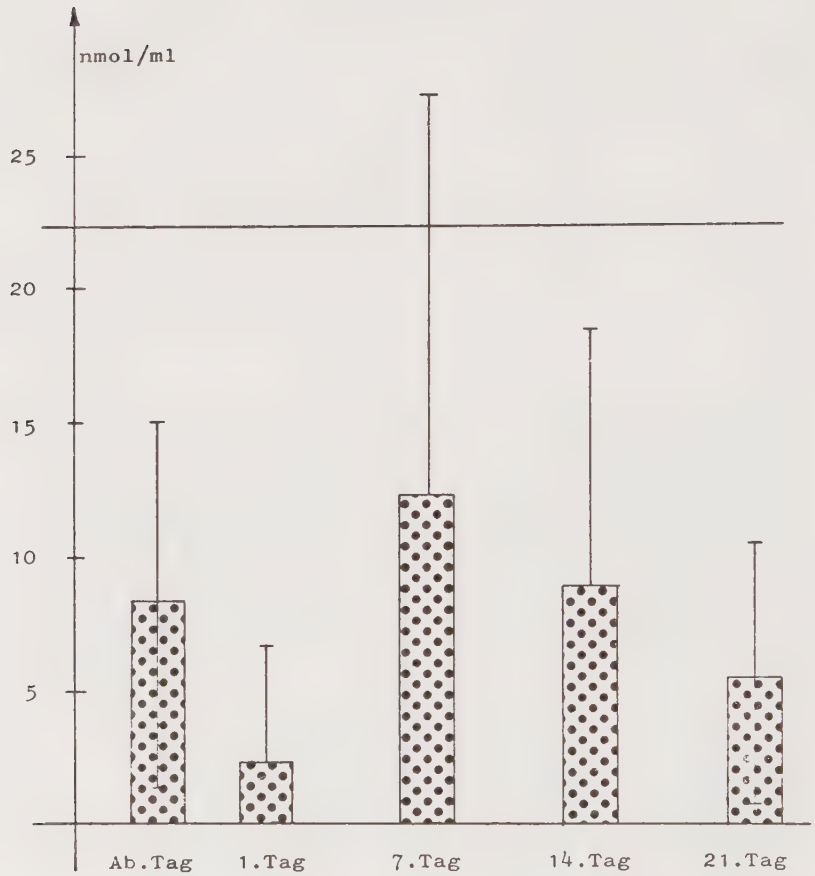


Stab I



Im Globaltest unterscheiden sich die Mittelwerte der beiden Stabilisatoren mit $p < 0,05$ signifikant. Der signifikante Unterschied ist bedingt durch die Mittelwertsdifferenz am Abnahmetag: in Stab II beträgt die Glucosekonzentration nur 57 % von der in Stab II.
In der Profilanalyse wird Parallelität der Kurven mit $p < 0,05$ abgelehnt. Dafür ist die Abnahme der Glucosekonzentration in Stab I um 38,6 % bis zum 7.Tag verantwortlich. In Stab II gibt es in diesem Zeitraum mit 8,588 mmol/l auf 8,715 mmol/l keine Veränderung.
Am 21.Tag ist die Glucosekonzentration in beiden Stabilisatoren auf 6,0 mmol/l abgesunken.
Insgesamt fällt sie im beobachteten Zeitraum in Stab I auf 40 %, in Stab II auf 70 % des Ausgangswertes ab.

10. Glucose-6-Phosphat (nmol/ml)

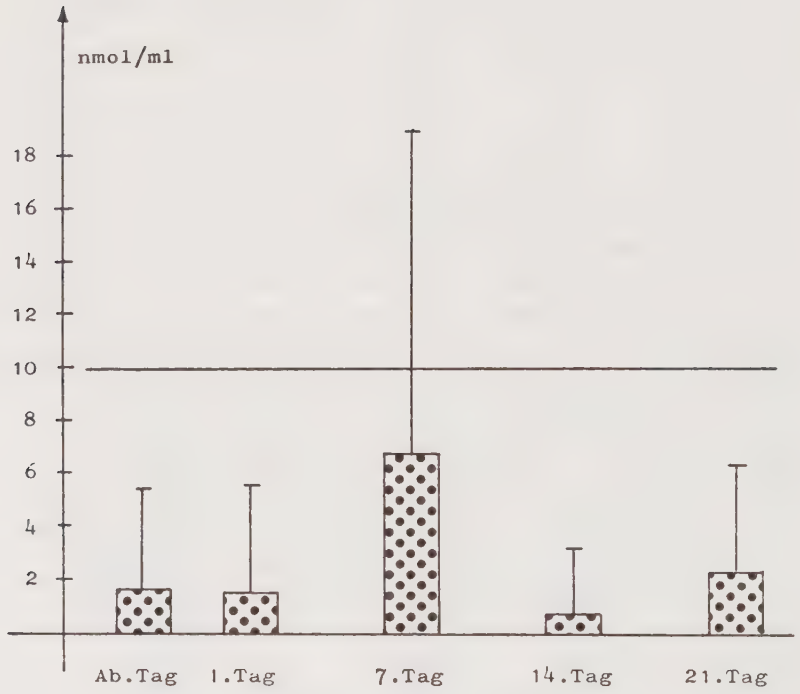


	Ab.Tag	1.Tag	7.Tag	14.Tag	21.Tag
n	30	30	30	30	30
s	6,85	4,34	14,97	9,51	4,84
x	8,27	2,32	12,31	8,97	5,55

k	Ab.T./1.Tag	1./14.Tag	7./14.Tag	14./21.Tag
	Ab.T./7.Tag	1./21.Tag	7./21.Tag	
	Ab.T./14.Tag			
	Ab.T./21.Tag			

Die Gleichheit der Mittelwerte wird abgelehnt mit p 0,05. Im Scheffé-Test zeigt sich ein signifikanter Unterschied jedoch nur vom 1. zum 7. Tag. In dieser Zeit steigt die Glucose-6-Phosphat-Konzentration von 2,32 nmol/ml auf 12,31 nmol/ml an, das ist ein Anstieg um das 5,3fache. An allen Maßzeitpunkten sind die Mittelwertsdifferenzen zwar nicht signifikant, aber doch erheblich: vom Ab.Tag zum 1.Tag fällt die Konzentration von 8,27 nmol/ml auf 2,32 nmol/ml, d.h. um 72 % ab. Vom 7. zum 14. Tag fällt sie auf 8,79 nmol/ml um 27,14 % ab und liegt damit auf Höhe des Ausgangswertes. Zum 21. Tag fällt sie nochmals um 38,16 % auf 5,55 nmol/ml und liegt damit um 32,92 % niedirger als am Ab.Tag.
Alle Mittelwerte liegen unter den Normalwerten.

11. Fructose-6-Phosphat (nmol/ml)

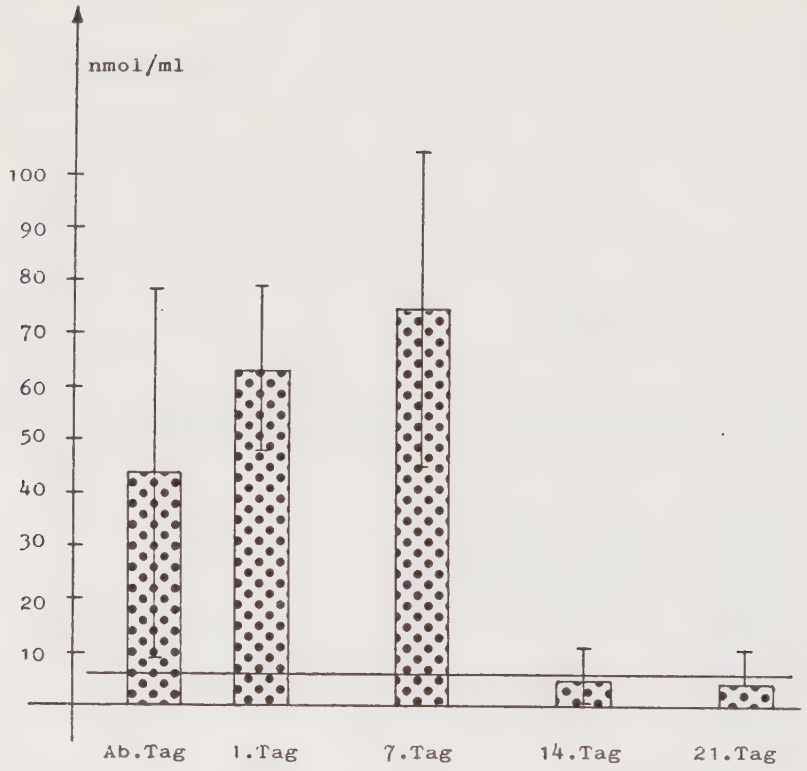


	Ab.Tag	1.Tag	7.Tag	14.Tag	21.Tag
n	30	30	30	30	30
s	3,83	3,98	12,13	2,54	4,02
$\bar{x}$	1,6	1,51	6,78	0,66	2,26
		└── u ──┘	└── u ──┘		
	└──────── u ────────┘				

k Ab.T./1.Tag 1./14.Tag 7./21.Tag 14./21.Tag
Ab.T./14.Tag 1./21.Tag
Ab.T./21.Tag

Die Mittelwerte unterscheiden sich im Globaltest signifikant mit $p < 0,05$.
Innerhalb des 1.Tages bleibt die Fructose-6-P-Konzentration mit 1,6 nmol/ml auf 1,51 nmol/ml gleich. Zum 7.Tag erfolgt ein steiler signifikanter Anstieg um das 4,5fache auf 6,78 nmol/ml. Zum 14.Tag fällt sie ebenso steil und signifikant um 89 % auf 0,66 nmol/ml wieder ab. Der Anstieg um das 3,4fache auf 2,26 nmol/ml zum 21.Tag ist nicht signifikant.
Gegenüber der Ausgangskonzentration nimmt Fructose-6-Phosphat um das 1,4fache zu, was aber nicht signifikant ist.
Die Mittelwerte liegen unter den Normalwerten.

12. Fructose-1,6-Diphosphat (nmol/ml)

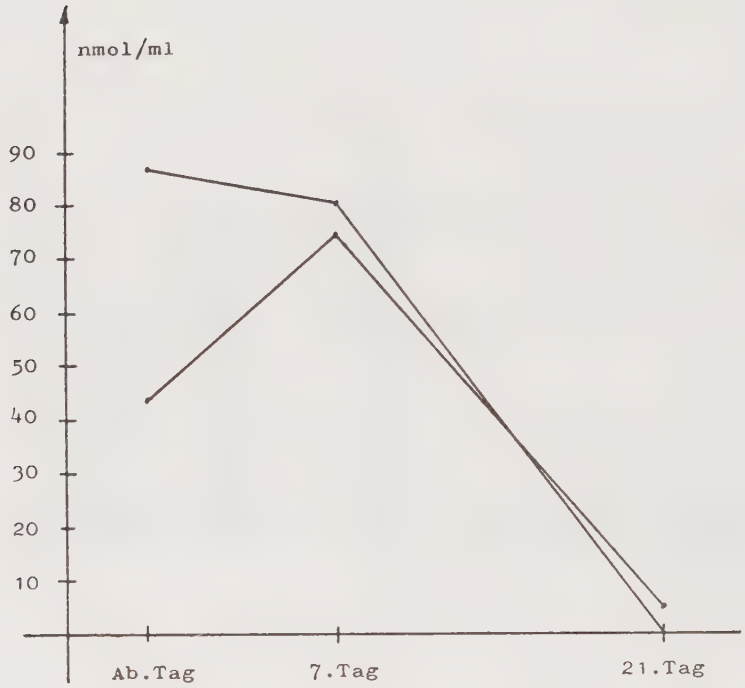


	Ab.Tag	1.Tag	7.Tag	14.Tag	21.Tag
n	30	30	30	30	30
s	34,59	15,55	29,54	5,06	5,15
$\bar{x}$	43,45	63,35	74,47	5,07	4,97
		k		k	

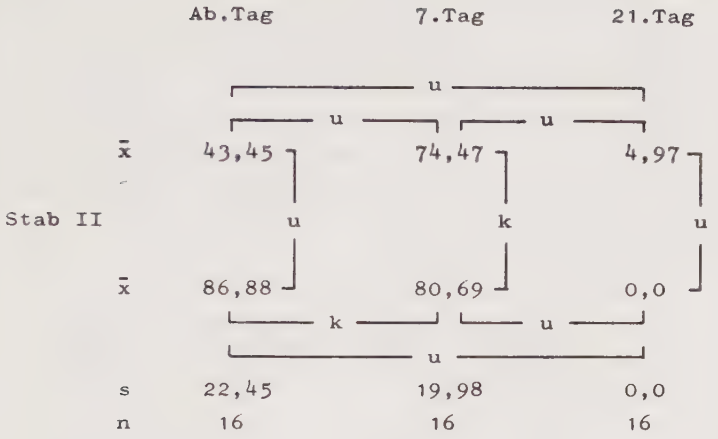
u Ab.T./1.Tag 1./14.Tag 7./14.Tag
Ab.T./7.Tag 1./21.Tag 7./21.Tag
Ab.T./14.Tag
Ab.T./21.Tag

Die Gleichheit der Meßwiederholungen wird im Globaltest mit $p < 0,05$ abgelehnt.
Innerhalb des 1. Tages steigt die Fructose 1,6-P_2-Konzentration von 43,45 nmol/ml auf 63,35 nmol/ml signifikant an. Der weitere Anstieg auf 74,47 nmol/ml am 7.Tag ist nicht signifikant. Am 14.Tag fällt die Konzentration um 93,2 % auf 5,07 nmol/ml ab und erreicht am 21. Tag den Wert von 4,97 nmol/ml. Dieser Unterschied ist nicht signifikant.
Insgesamt nimmt die Fructose-1,6-P_2-Konzentration um 88,58 % gegenüber dem Ausgangswert ab.
Die Mittelwerte an den ersten 3 Meßtagen liegen weit über dem Normalwert (das 7 bis 11fache), die der beiden letzten Meßtage etwas darunter.

13. Vergleich: Fructose-1,6-Diphosphat



Stab I

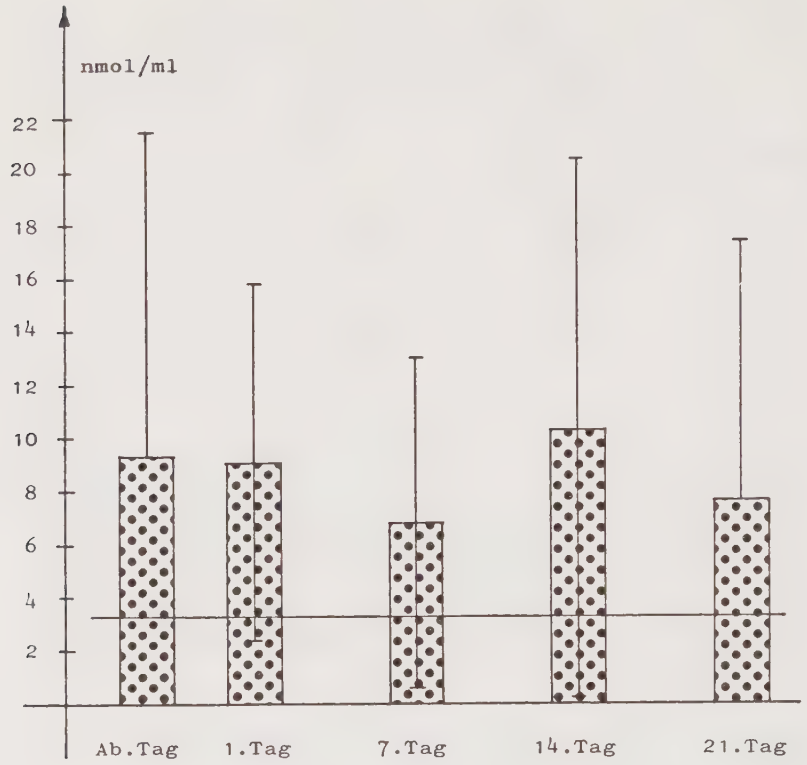


Die Mittelwerte der beiden Gruppen unterscheiden sich signifikant am Ab.Tag und am 21.Tag, nicht jedoch am 7.Tag. Am Ab.Tag beträgt der Unterschied 50 %. Parallelität der Kurven wird abgelehnt. Die weitere Aufschlüsselung im Scheffé-Test zeigt, daß der Verlauf der Kurvenvom Ab.Tag zum 7.Tag signifikant unterschiedlich ist, nicht aber vom 7. zum 21.Tag.

Die Fructose-1,6-P_2-Konzentration liegt in Stab I am Ab.Tag mit 43,45 nmol/ml um 50 % niedriger als in Stab II mit 86,88 nmol/ml. Zum 7.Tag hin ist in Stab I ein signifikanter Anstieg um 42 % auf 74,47 nmol/ml zu verzeichnen. In Stab II erfolgt in diesem Zeitraum keine signifikante Änderung. Zum 21.Tag hin ergibt sich eine starke signifikante Konzentrationsabnahme: In Stab I fällt sie auf 4,97 nmol/ml, d.h. auf 11,4 % der Ausgangskonzentration ab, in Stab II ist am 21.Tag kein Fructose-1,6-P_2 mehr nachweisbar.

Die Mittelwerte liegen am 21.Tag in beiden Stabilisatoren unter dem Normalwert.

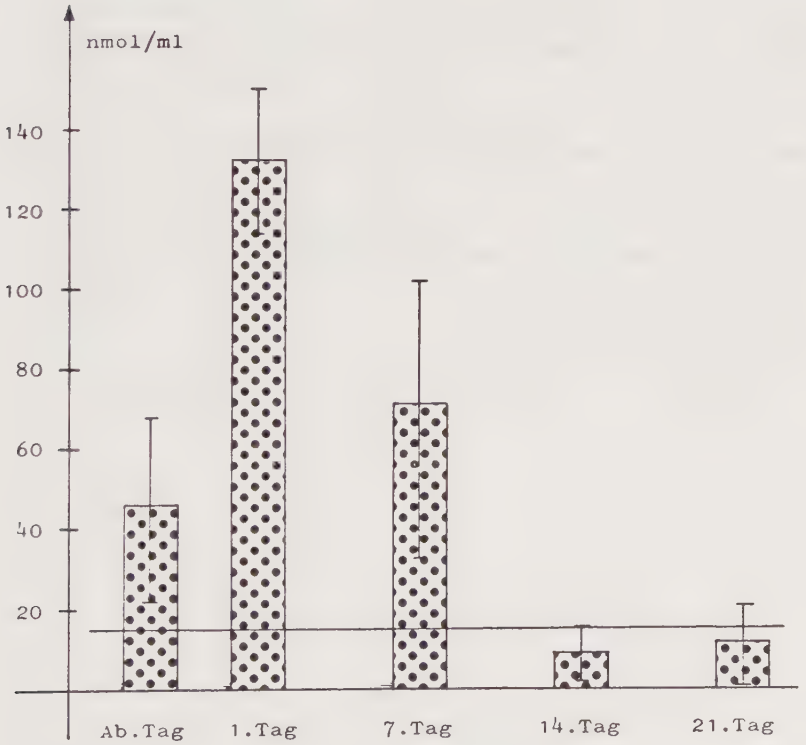
14. Glycerinaldehyd-3-Phosphat (nmol/ml)



	Ab.Tag	1.Tag	7.Tag	14.Tag	21.Tag
n	30	30	30	30	30
s	12,21	6,68	6,17	10,13	9,52
$\bar{x}$	9,30	9,09	6,80	10,29	7,81
k	zwischen allen Meßzeitpunkten				

Die Meßwiederholungen unterscheiden sich statistisch mit $p > 0,05$ nicht.
Die graphische Darstellung zeigt aber doch Unterschiede: So sinkt die GAP-Konzentration am 7.Tag um 25,26 % auf 6,80 nmol/ml ab von 9,30 nmol/ml am Ab.Tag und 9,09 nmol/ml am 1.Tag. Am 14.Tag steigt sie um 33,95 % auf 10,29 nmol/ml an, um am 21.Tag um 25 % auf 7,81 nmol/ml abzusinken. Am 21.Tag ist die Konzentration um 16 % gegenüber dem Ausgangswert abgesunken.

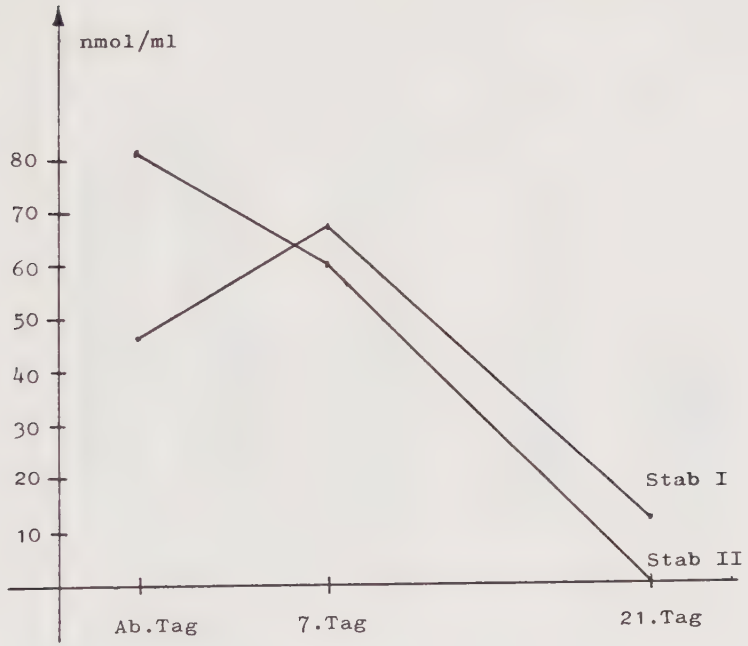
15. Dihydroxyacetonphosphat (nmol/ml)



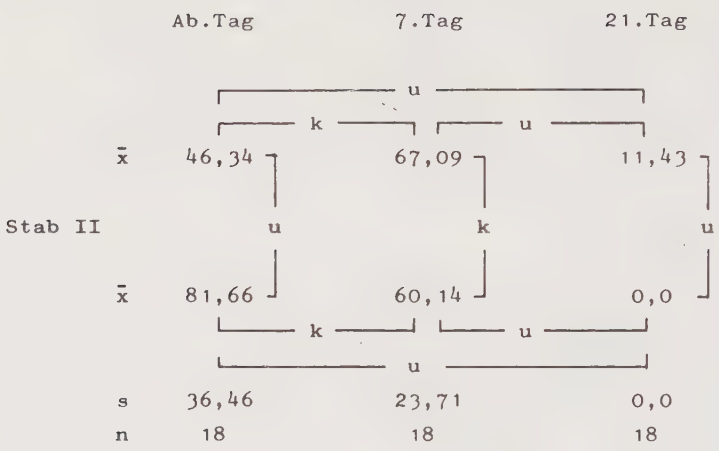
	Ab.Tag	1.Tag	7.Tag	14.Tag	21.Tag
n	30	30	30	30	30
s	24,50	18,31	34,65	7,19	9,55
$\bar{x}$	46,34	132,47	67,09	8,98	11,43
				k	
u	besteht zwischen allen anderen Meßzeitpunkten				

Gleichheit der Mittelwerte wird mit $p < 0,05$ abgelehnt.
Innerhalb des 1.Tages steigt die DAP-Konzentration von 46,34 nmol/ml um das 2,9fache auf 132,47 nmol/ml an, um am 7.Tag wieder um die Hälfte auf 67,09 nmol/ml abzusinken. Am 14.Tag fällt die Konzentration weiter um 86,61 % auf 8,98 nmol/ml ab und verändert sich bis zum 21.Tag mit einem Anstieg auf 11,43 nmol/ml statistisch nicht mehr.
Gegenüber dem Abnahmetag ist die DAP-Konzentration um 75 % abgefallen.
Die Mittelwerte der ersten 3 Meßtage liegen weit über, die am 14. und 21.Tag unter dem Normalwert.

16. Vergleich: Dihydroxyacetonphosphat

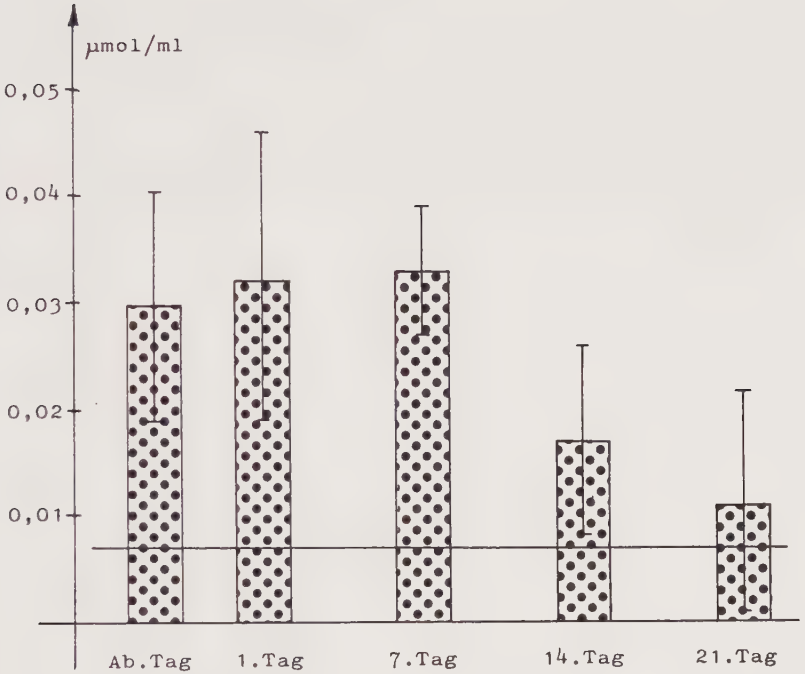


Stab I



Der Globaltest ergibt, daß sich die Mittelwertsvektoren signifikant unterscheiden mit $p < 0,05$. Bei der Aufschlüsselung zeigt sich, daß nur am Ab.Tag und am 21.Tag signifikante Unterschiede bestehen.
Parallelität wird insgesamt abgelehnt. Der weitere Test zeigt, daß unterschiedlicher Kurvenverlauf vom Ab.Tag zum 7.Tag, vom 7. zum 21.Tag jedoch Parallelität besteht.
In der 1. Woche überschneiden sich die Kurven.
Die Ausgangskonzentration am Ab.Tag liegt in Stab I um 43,25 % niedriger als in Stab II. Vom Ab.Tag zum 7.Tag ist die Konzentrationsveränderung in beiden Stabilisatoren statistisch nicht signifikant. Die Konzentrationsabnahme vom 7. zum 21.Tag und vom Ab.Tag zum 21.Tag ist jedoch signifikant.
Am 21.Tag ist in Stab II kein DAP mehr nachweisbar, in Stab I sinkt die Konzentration auf 24,67 % des Ausgangswertes ab.
Die Mittelwerte liegen am 21.Tag unter dem Normalwert.

17. 2-Phosphoglycerat (µmol/ml)

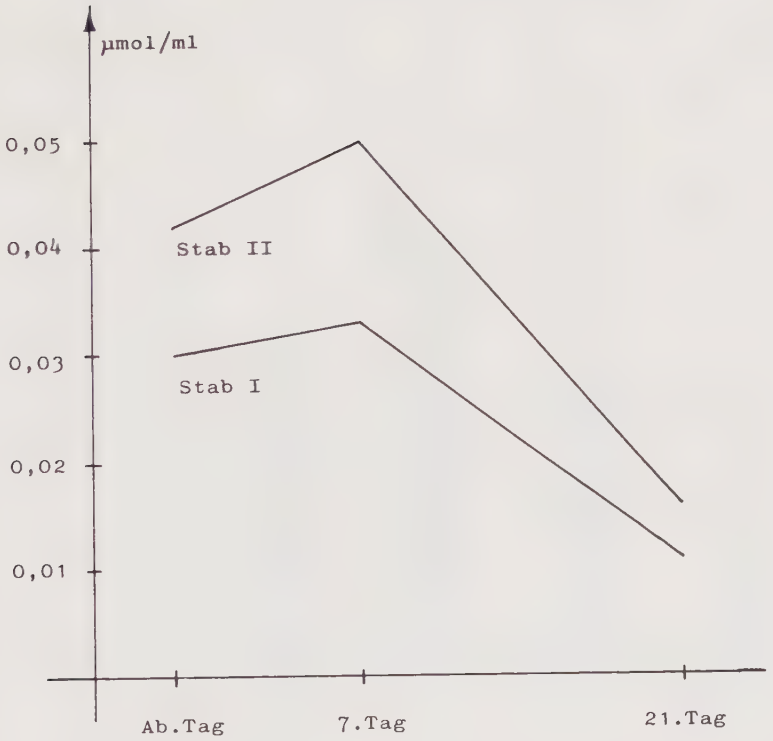


	Ab.Tag	1.Tag	7.Tag	14.Tag	21.Tag
n	30	30	30	30	30
s	0,011	0,014	0,006	0,009	0,011
$\bar{x}$	0,030	0,032	0,033	0,017	0,011
	k	k		k	
	k				

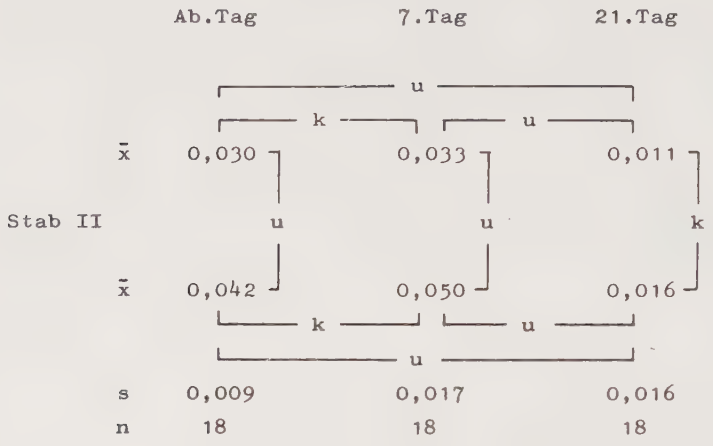
u Ab.T./14.Tag 1./14.Tag 7./14.Tag
Ab.T./21.Tag 1./21.Tag 7./21.Tag

Im Globaltest werden die Mittelwerte als signifikant unterschiedlich angesehen.
Am Abnahmetag beträgt die mittlere 2-PG-Konzentration 0,030 µmol/ml. Der Ansieg auf 0,032 µmol/ml am 1.Tag und 0,033 µmol/ml am 7.Tag ist nicht signifikant. Die Abnahme um 48,5 % auf 0,017 µmol/ml ist signifikant. Am 21.Tag ist die 2-PG-Konzentration weiter auf 0,011µmol/ml abgesunken. Die Abnahme um 33,5 % ist statistisch aber nicht signifikant. Gegenüber dem Abnahmetag ist die Konzentration am 21.Tag um 61,95 % abgefallen.

18. Vergleich: 2-Phosphoglycerat



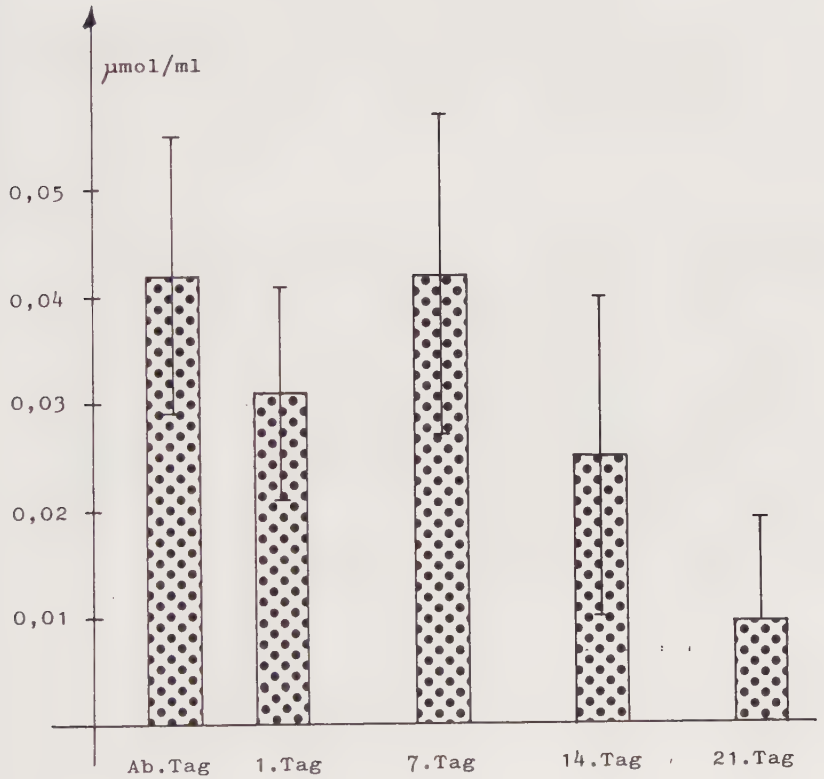
Stab I



Die Kurven verlaufen parallel

Im Globaltest unterscheiden sich die Mittelwertsvektoren der beiden Stabilisatoren signifikant mit $p < 0,05$. Im Scheffé-Test besteht ein signifikanter Unterschied aber nur am Ab.Tag und am 7.Tag: am Ab.Tag liegt die 2-PG-Konzentration in Stab I um 30 %, am 7.Tag um 34 % niedriger als in Stab II. Die Mittelwerte liegen damit in Stab I durchweg niedriger als in Stab II.
Parallelität der Kurven wird mit $p > 0,05$ angenommen. Sie verlaufen über den ganzen Zeitraum parallel, aber mit $p < 0,001$ nicht auf dem gleichen Level.
Vom Ab.Tag zum 7.Tag zeigt sich statistisch in beiden Stabilisatoren keine Veränderung. In Stab I steigt die 2-PG-Konzentration dabei von 0,030 µmol/ml auf 0,033 µmol/ml, in Stab II von 0,042 µmol/ml auf 0,050 µmol/ml an. Die Abnahme vom 7. zum 21.Tag ist in beiden Stabilisatoren signifikant: in Stab I sinkt die Konzentration auf 0,011 µmol/ml, in Stab II auf 0,016 µmol/ml. Vom Ab.Tag zum 21.Tag nimmt die 2-PG-Konzentration in Stab I um 63 %, in Stab II um 62 % ab.

19. Phosphoenolpyruvat (µmol/ml)



	Ab.Tag	1.Tag	7.Tag	14.Tag	21.Tag
n	30	30	30	30	30
s	0,013	0,010	0,015	0,015	0,010
$\bar{x}$	0,042	0,031	0,042	0,025	0,010

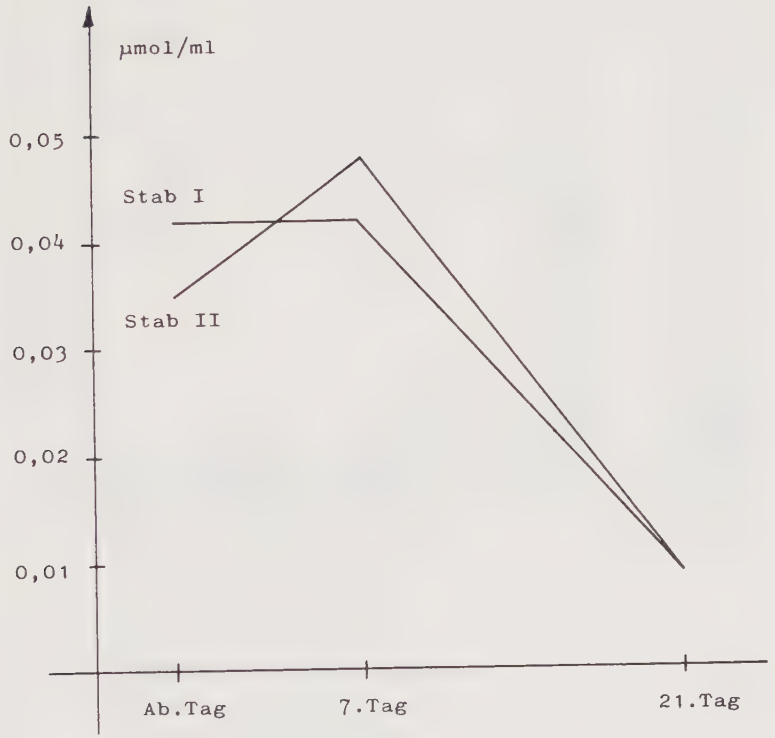
k

k

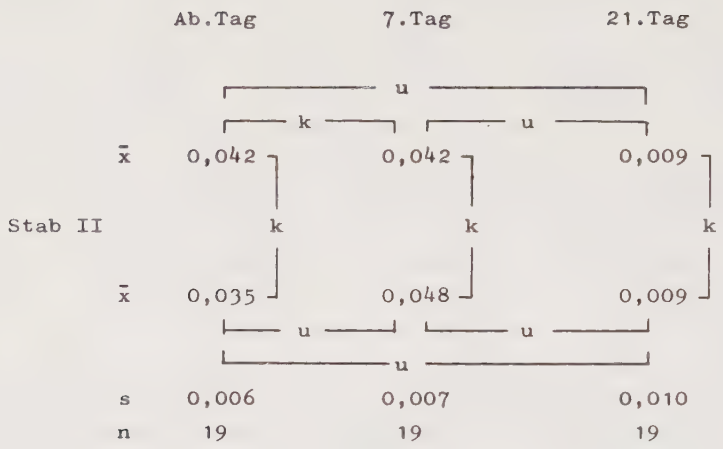
u Ab.T./1.Tag 1./7.Tag 7./14.Tag 14./21.Tag
Ab.T./14.Tag 1./21.Tag 7./21.Tag
Ab.T./21.Tag

Die Mittelwerte unterscheiden sich mit $p < 0,05$ signifikant. Innerhalb des 1.Tages fällt die PEP-Konzentration von 0,042 µmol/ml auf 0,031 µmol/ml um 24,76 % signifikant ab, Am 7.Tag ist sie wieder auf den Wert am Ab.Tag angestiegen. Dann erfolgt eine kontinuierliche Konzentrationsabnahme bis zum 21.Tag: am 14.Tag um 40,24 % auf 0,025 µmol/ml und am 21.Tag um 62 % auf 0,010 µmol/ml. Beidesmal ist sie signifikant.
Die mittlere PEP-Konzentration am 21.Tag entspricht somit 22,86 % der Konzentration am Abnahmetag.

20. Vergleich: Phosphoenolpyruvat

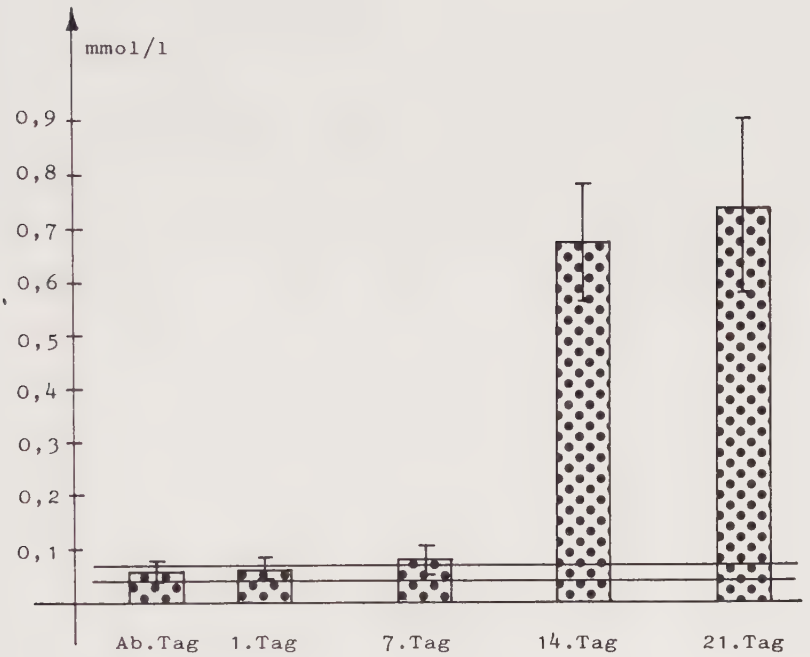


Stab I



Im Globaltest unterscheiden sich die Mittelwertsvektoren signifikant mit $p < 0,05$.
In der Scheffé-Prozedur wird aber der Unterschied an den einzelnen Tagen nicht als signifikant angesehen.
Das Schaubild und die weiteren Tests erklären diese widersprüchliche Aussage: in Stab II steigt die PEP-Konzentration von 0,035 µmol/ml auf 0,048 µmol/ml an und schneidet dabei die Kurve des Stab I, die sich in diesem Zeitraum bei 0,042 µmol/ml nicht verändert.
Im Stab II liegt sie damit am Ab.Tag um 17 % unter der in Stab I, am 7.Tag um 12,5 % höher als in Stab I.
Parallelität der Kurven wird abgelehnt. Für die Zeit vom 7. zum 21.Tag wird paralleler Verlauf angenommen.
In beiden Stabilisatoren fällt PEP am 21.Tag auf 0,009 µmol/ml ab.
In Stab I fällt es insgesamt auf 21,4 % ab, in Stab II auf 18,75 %.

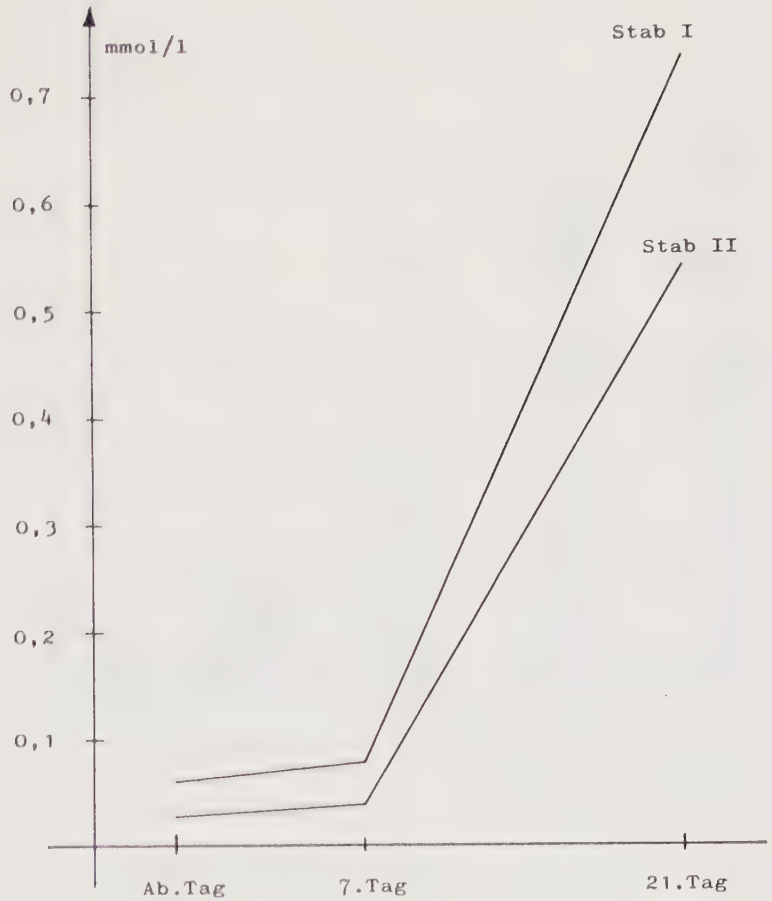
21. Pyruvat (mmol/l)

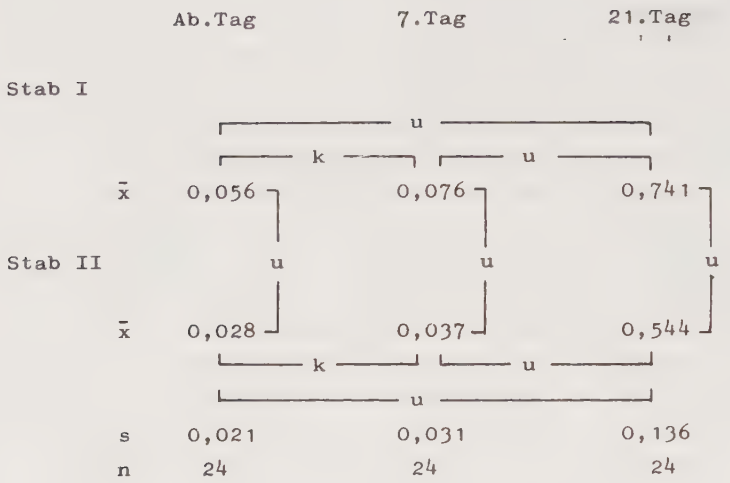


	Ab.Tag	1.Tag	7.Tag	14.Tag	21.Tag
n	18	18	18	18	18
s	0,017	0,021	0,026	0,110	0,162
$\bar{x}$	0,056	0,061	0,076	0,675	0,741
	k	k		k	
	k				
u	Ab.T./14.Tag	1./14.Tag	7./14.Tag		
	Ab.T./21.Tag	1./21.Tag	7./21.Tag		

Mit $p < 0,05$ ändern sich die Mittelwerte an den 5 Meßzeitpunkten signifikant.
Zwischen Ab.Tag und 1.Tag und 1. und 7.Tag ist der Anstieg von 0,056 mmol/l auf 0,061 mmol/l und weiter auf 0,076 mmol/l nicht signifikant; ebenso ist nicht signifikant der Anstieg zwischen dem 14. und 21.Tag von 0,675 mmol/l auf 0,741 mmol/l. Insgesamt steigt die Pyruvat-Konzentration im beobachteten Zeitraum um etwa das 13fache. Sie liegt am Ab.Tag und am 1.Tag, im Normbereich, am 7.Tag wenig darüber und übersteigt ihn dann um etwa das 13fache. Der signifikante Unterschied besteht damit zwischen dem 7. und 14.Tag.

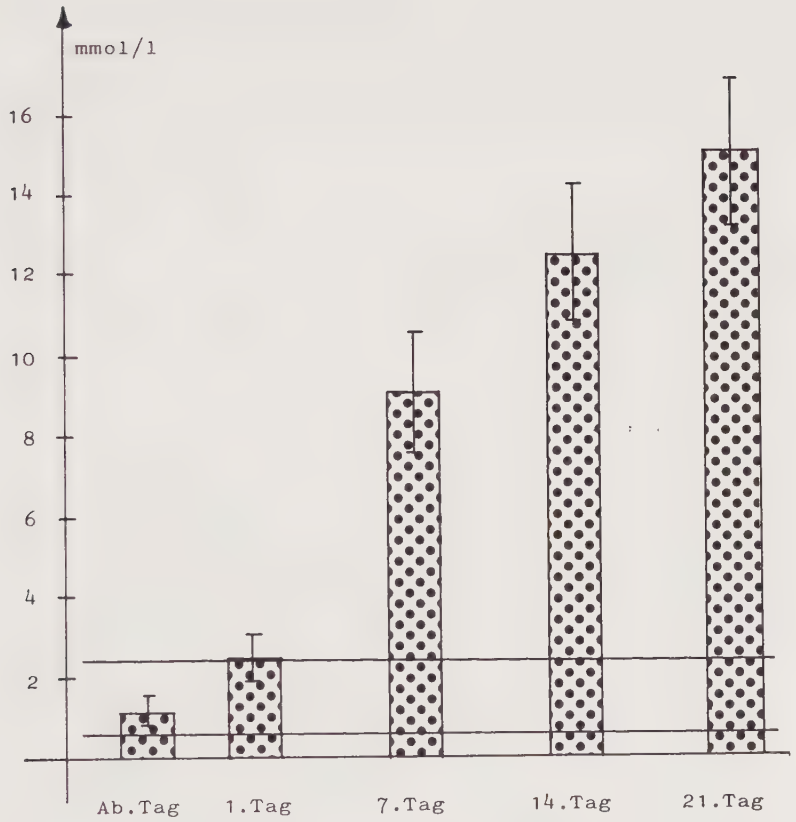
22. Vergleich: Pyruvat





Die Kurven verlaufen parallel und liegen mit $p < 0{,}813$ auf dem gleichen Level.
Die Mittelwerte in Stab II liegen am Ab.Tag um 50 %, am 7.Tag um 51,32 % und am 21.Tag um 26,59 % mit $p < 0{,}05$ signifikant niedriger als in Stab I.
Die Kurven verlaufen mit $p > 0{,}05$ parallel.
Nach dem Equal-Response-Test besteht zwischen dem Ab.Tag mit 0,056 mmol/l und dem 7.Tag mit 0,076 mmol/l in Stab I und 0,028 mmol/l und 0,037 mmol/l in Stab II kein signifikanter Unterschied. Vom 7. zum 21.Tag steigt die Pyruvatkonzentration in beiden Stabilisatoren signifikant an: in Stab I auf 0,741 mmol/l, in Stab II auf 0,554 mmol/l.
Gegenüber dem Ausgangswert nimmt Pyruvat in Stab I um das 13fache, in Stab II um das 19fache zu.
Am Ab.Tag und am 7.Tag liegt Pyruvat in Stab II unterhalb des Normbereiches, am 21.Tag wie in Stab I weit darüber.

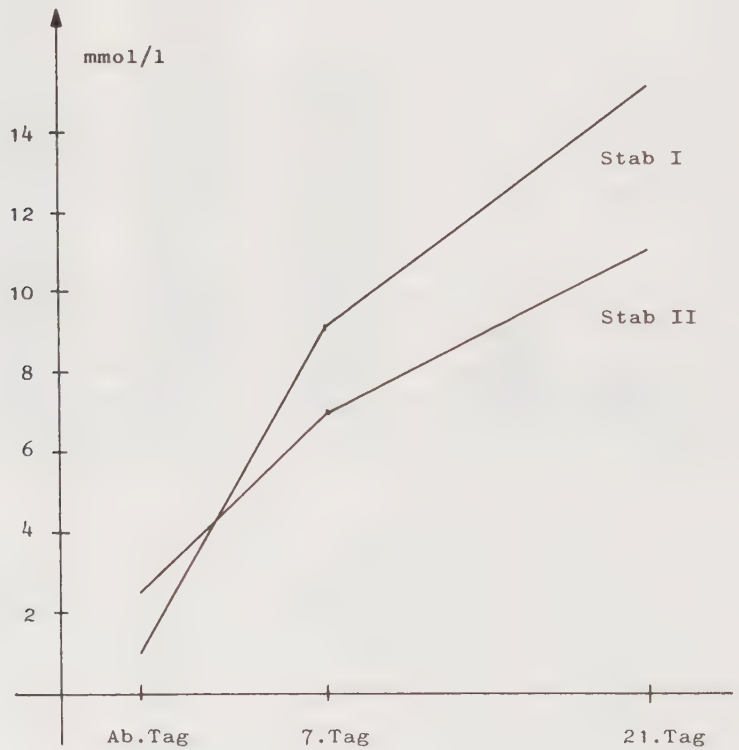
23. Lactat (mmol/l)



	Ab.Tag	1.Tag	7.Tag	14.Tag	21.Tag
n	30	30	30	30	30
s	0,414	0,600	1,529	1,685	1,841
$\bar{x}$	1,11	2,48	9,12	12,59	15,11
u	besteht zwischen allen Meßzeitpunkten				

Der Lactatanstieg vom Ab.Tag zum 1.Tag von 1,11 mmol/l auf 2,48 mmol/l, zum 7.Tag auf 9,12 mmol/l, zum 14.Tag auf 12,59 mmol/l und zum 21.Tag auf 15,11 mmol/l ist jeweils signifikant mit p 0,05.
Insgesamt nimmt Lactat um das 13fache gegenüber dem Ausgangswert zu.
Am Ab.Tag liegt die Lactatkonzentration im Normbereich, am 1.Tag gering, ab dem 7.Tag weit darüber.

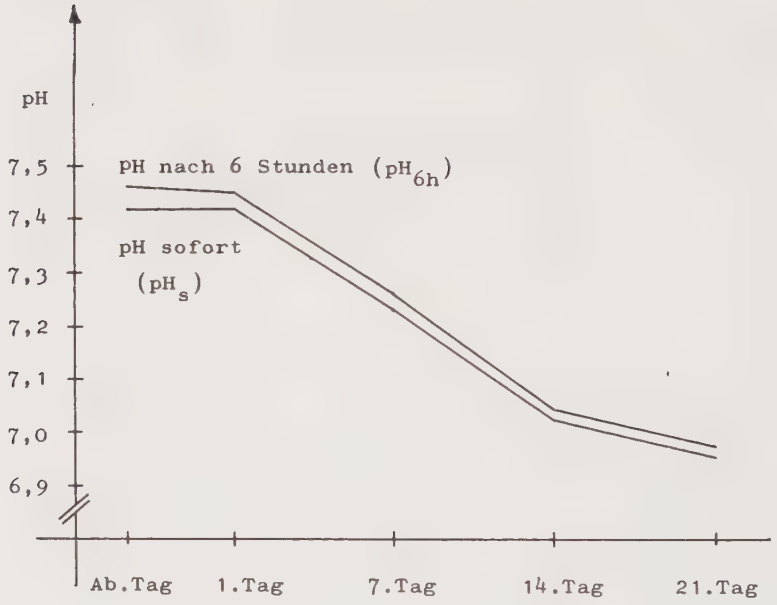
24. Vergleich: Lactat



	Ab.Tag	7.Tag	21.Tag
Stab I			
$\bar{x}$	1,11	9,12	15,11
Stab II			
$\bar{x}$	2,52	7,01	12,40
s	1,854	1,354	2,467
n	23	23	23

Die Mittelwerte unterscheiden sich signifikant mit $p < 0,05$.
Am Ab.Tag beträgt die Lactatkonzentration in Stab I 43,88 % der Konzentration in Stab II. Am 7.Tag liegt sie in Stab II um 23 % und am 21.Tag um 18 % niedriger als in Stab I.
Parallelität der Kurven wird abgelehnt mit $p < 0,05$.
Lactat steigt in Stab I vom Ab.Tag bis zum 7.Tag von 1,11 mmol/l auf 9,12 mmol/l an, in Stab II steigt es von einem höheren Ausgangswert von 2,52 mmol/l auf 7,01 mmol/l am 7.Tag an. Auch der weitere Anstieg zum 21.Tag in Stab I auf 15,11 mmol/l und in Stab II auf 12,40 mmol/l ist in beiden Stabilisatoren signifikant.
Im Normalbereich liegt nur der Ausgangswert in Stab I.
Im Stabilisator I nimmt die Lactatkonzentration um das 13fache, in Stab II um das 5fache zu.

25. Vergleich: pH sofort / nach 6 Stunden



	Ab.Tag	1.Tag	7.Tag	14.Tag	21.Tag
pH_s					
n	24	24	24	24	24
s	0,034	0,038	0,053	0,075	0,076
u	besteht zwischen allen Meßzeitpunkten, außer				
	⌐— k —⌐				
$\bar{x}$	7,422 ⌐	7,419 ⌐	7,232 ⌐	7,026 ⌐	6,950 ⌐
pH_{6h}	u ⌊	k ⌊	k ⌊	k ⌊	k ⌊
$\bar{x}$	7,461 ⌊	7,449 ⌊	7,257 ⌊	7,039 ⌊	6,971 ⌊
	⌊— k —⌋				
u	besteht zwischen allen anderen Meßzeitpunkten				
s	0,039	0,061	0,060	0,103	0,082
n	24	24	24	24	24

Es besteht zwischen den Mittelwertsvektoren im Globaltest ein signifikanter Unterschied mit $p < 0,05$.
Die Signifikanz ist bedingt durch die Mittelwertsdifferenz am Abnahmetag: Nach sofortiger Messung liegt der pH bei 7,42, nach 6 Stunden bei 7,46. An allen anderen Tagen besteht zwischen den Mittelwerten kein signifikanter Unterschied: am 1.Tag beträgt der pH_s 7,42, der pH_{6h} 7,45, am 7.Tag der pH_s 7,23, der pH_{6h} 7,56, am 14.Tag der pH_s 7,03, der pH_{6h} 7,04, am 21.Tag der pH_s 6,95, der pH_{6h} 6,97.
Das Verhalten der Mittelwerte zueinander an den einzelnen Tagen in einer Gruppe ist schon bei 3. beschrieben. Paralleler Verlauf der Kurven wird mit $p > 0,05$ angenommen. Bei der weiteren Untersuchung zeigt sich, daß alle Abschnitte der Kurven parallel verlaufen.
Mit $p > 0,05$ wird im Level-Test auch angenommen, daß die Kurven auf dem gleichen Niveau liegen.

IV DISKUSSION

1. Kritik der Methodik der pH-Bestimmung

Der große pH-Wert-Unterschied zwischen den beiden Stabilisatoren veranlaßte uns dazu zu untersuchen, ob der Zeitpunkt der pH-Bestimmung nach Öffnen der Konserve diesen Unterschied bewirkt oder beeinflußt. Dazu bestimmten wir den pH-Wert der von uns untersuchten Konserven sofort nach Eröffnen und nach 6 Stunden.
Die Ergebnisse sind in II.25. dargestellt. Sie zeigen, daß der Zeitfaktor statistisch keine große Rolle spielte. Die Kurven verlaufen statistisch signifikant auf dem gleichen Niveau und parallel.
Daraus läßt sich schließen, daß der Zeitfaktor auch keinen bedeutenden Einfluß auf den pH-Wert-Unterschied zwischen den beiden Stabilisatoren hatte. Dieser war somit ganz auf die Auswirkung der verschiedenen Histidinkonzentrationen zurückzuführen.
Am Abnahmetag bestand ein signifikanter Unterschied zwischen den Mittelwerten. Physiologisch gesehen ist aber auch der statistisch nicht signifikante pH-Unterschied zwischen 7,42 und 7,45, gemessen am 1. Tag, von Bedeutung. Weiter lagen die Standardabweichungen der Mittelwerte nach 6 Stunden durchweg höher, d.h. die Meßungenauigkeit nahm zu. Einen so wichtigen Parameter, der in so engen Grenzen reguliert wird, sollte man deshalb sofort bestimmen, um eine genauere Aussage machen zu können.
Wir benutzten für die statistische Auswertung daher die sofort bestimmten pH-Werte.

2. K-Mg-Asparat-ACD-Stabilisator + Histidinzusatz

Zur Erhellung des Einflusses, den der Stabilisator auf die Konservierung hat, sollen zuerst seine Komponenten besprochen werden.

a) Magnesium und Kalium

Die Serum-Magnesiumkonzentration beträgt 1,6 - 2,3 mval/l (72). Davon sind 30 % an Protein gebunden, 10 - 15 % komplex gebunden und 55 - 60 % liegen in ionisiertem Zustand vor (72). Nur dieses ist wirksam. 99 % des Magnesiums liegt in der Zelle (31, 45), mit 8 mval/l (55) oder 5,0 - 5,5 mval/l Erythrozyten (11). Davon sind 90 % gebunden.

Magnesium ist nach Kalium das Kation mit höchster intracellulärer Konzentration. Vom K-Bestand befinden sich 98% intracellulär: 120 - 150 mval/l in der Zelle gegenüber 4,5 mval/l extracellulär.
Die Auswirkungen von Mg-Konzentrationsveränderungen auf den Makroorganismus wie die Wirkung auf Gefäße, die neuromuskuläre Erregbarkeit, die Thrombozytenaggregation, das EKG, sollen hier nicht besprochen werden, sondern nur die Auswirkungen auf cellulärer Ebene.
Magnesium ist beteiligt an allen ATP-abhängigen Reaktionen, der Pyrophosphatasereaktion, des Biosynthese von DNA und RNA, und an der Proteinsynthese durch Vereinigung der 30 S und 50 S Ribosomen zu 70 S Ribosomen (11). Als Cofaktor ATP-abhängiger Reaktionen ist es von außerordentlicher Bedeutung für die Na-K-Membran-ATPase und für die Glykolyse: für die Hexokinase-, Phosphofructokinase-, Enolase- und Pyruvatkinasereaktion (36).

Abkürzungen: HK = Hexokinase
PFK = Phosphofruktokinase
PK = Pyruvatkinase

Bei einer freien intracellulären Mg^{++}-Konzentration von 10^{-3} mol/l (31) sind außer der HK mit einer Mg-Dissoziationskonstanten K_m von 2×10^{-3} alle Enzyme optimal aktiviert (36). ($K_{MgPFK} = 5,5 \times 10^{-4}$, $K_{Mg\ Enolase} = 2,5 \times 10^{-5}$ 36).

Auch wenn das gesamte intracelluläre Magnesium zur Verfügung steht, wird also ein Maximum an Glucoseumsatz nicht erreicht. Die HK arbeitet mit etwa 35 % ihrer maximalen Kapazität (56).

Günther und Dorn (30) fanden, daß in Säugetiererythrozyten die freie Mg-Aktivität mit 0,04 mmol/l wegen des hohen Gehalts an Chelatbildnern noch niedriger lag. Es wird geschätzt, daß weniger als 40 % des Magnesiums an Proteine und Phosphat, nicht ATP, komplex gebunden ist (56). Bis zu einer intracellulären freien Mg-Konzentration von 2 mM wird die Aktivität der Enzyme gesteigert (52). Dies beruht nicht nur auf der aktivierenden Wirkung der Mg-Ionen selbst, sondern auch auf der Beseitigung von Inhibitoren der HK und PFK wie ATP und 2,3-DPG, deren freier Anteil durch Komplexbildung mit Mg-Ionen verringert wird (28, 52). Bei hohen intracellulären freien Mg-Konzentrationen wird die Aktivität der Enzyme zunehmend gehemmt, indem die Mg-Ionen eine unspezifische Bindung mit dem Enzymprotein eingehen (31). Zwei andere Mechanismen sind möglich (45):

1. Die Affinität des Mg zu Adenosinphosphaten nimmt mit der Länge der Phosphatkette zu: mehr Mg wird gebunden und seine Aktivität vermindert.

1. Die Relation von Ca^{++} zu Mg^{++} wird verschoben. Bei Mg-Überschuß liegt die Reaktion

$$Ca^{++} + \text{Proteinat} \longrightarrow \text{Ca-Proteinat}$$

auf der rechten Seite.

Bei Mg-Mangel geht die HK-Aktivität um 45 %, die PFK-Aktivität um 30 % zurück (36).

Die Aktivität der Enzyme ist außer von Mg-Ionen auch von der ATP-Konzentration abhängig, da der Mg-ATP-Komplex das eigentliche Substrat der HK und PFK ist. Bei einem

ATP-Gehalt in Erythrozyten von $1,7 \times 10^{-3}$ M arbeitet die HK nur mit 60% der normalen Aktivität. ($K_{ATP\ HK} = 2,9 \cdot 10^{-3}$) während die PFK mit $K_{ATP\ PFK} = 3 \times 10^{-4}$ wieder im Sättigungsbereich liegt (36).
Die Regulation ATP-abhängiger Reaktionen ist noch komplizierter, da auch K-Ionen für alle Transphosphorylierungsreaktionen benötigt werden und damit an Eiweiß-, Kohlenhydrat- und Nukleotidstoffwechsel beteiligt sind (49).
Die Interaktion mit Magnesium sei am Beispiel der PFK-Reaktion gezeigt: Die PFK wird außer durch Mg-ATP-Komplex auch durch K-Ionen aktiviert, wofür das Enzym je ein aktives Zentrum besitzt. Eine Erhöhung der Konzentration von Mg^{++} oder K^{+} führt zur Inaktivierung des Enzyms, indem das andere Ion aus der Bindungsstelle verdrängt wird (25).

Der Austausch zwischen intra- und extracellulärem Magnesium ist ein aktiver Vorgang, wobei Mg-Einstrom und Mg-Ausstrom miteinander gekoppelt im Gleichgewicht stehen (31). In Abhängigkeit von der extracellulären Mg-Konzentration steigt die celluläre Mg-Konzentration. Die intracelluläre freie Mg-Konzentration bleibt dabei durch Puffer praktisch konstant (31, 72). Das zeigt, daß Magnesium nur an die Zellmembran gebunden wird (31). Magnesium, das in die Zelle gelängt, ist quantitativ unbedeutend und wird zudem von Chelatbildnern u.a. Citrat komplex gebunden (31). Bei intakten Erythrozyten ist die Glycolyserate also von der extracellulären Mg-Konzentration unabhängig (16).
Für unsere Versuche ist allerdings zu bedenken, daß in dem Stabilisator Substanzen vorhanden waren, die die Kinetik von Kationen beeinflussten.

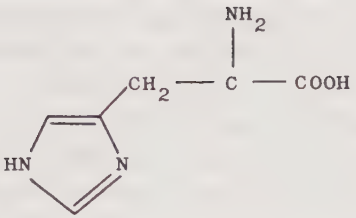
b) Aspartat

Asparaginsäure ist eine saure trivalent Aminosäure. Der Isoelektrische Punkt liegt bei 2,87 (11). Bei physiologischem pH-Wert liegt es als einwertiges Anion vor und ist auf Grund der freien Ladung stark hydrophil.
Die Aufnahme in die Zelle erfolgt entgegen einem Kon-

zentrationsgradienten durch aktiven Transport (64, 65). Es hat eine hohe Affinität zum Intracellulärraum (48) und wird daher rasch aufgenommen und sofort verstoffwechselt (65). In der Zelle wird es nicht an Rezeptoren fixiert (64).
Im Stoffwechsel nimmt es eine zentrale Stellung ein, denn es wird verwendet zur Gluconeogenese, zur Purin- und Pyrimidinsynthese (65), im Harnstoffzyclus (25, 48) und zur Energiegewinnung im Citratzyclus (25, 48). Es steht mit der Oxalessigsäure im Gleichgewicht und erhöht durch ausreichende Substratzufuhr die Cyclus-Aktivität.

Die Aufnahme wird unabhängig vom pH, aber abhängig von der extracellulären K^+-Konzentration stimuliert, ohne daß Phosphat oder Citrat vorhanden sein muß. Umgekehrt fördert auch Aspartat die Aufnahme von K^+ in die Zelle (65). Diese gegenseitige Beeinflussung ist leicht zu erklären, denn aus Elektroneutralitätsgründen muß dem anionischen Aspart ein Kation folgen. Damit ist die wichtigste Funktion des L-Aspartats beschrieben: Es transportiert K^+, Mg^{++} und auch andere Kationen wie Zn^{++} in die Zelle.
Die schon seit längerer Zeit bekannte klinische Wirksamkeit des K-Mg-Aspartats (32, 48, 72) beruht also darauf, daß Elektrolytverlusten entgegengewirkt wird, weil die Elektrolyte längere Zeit undissoziiert in der Zelle bleiben, und durch beide Komponenten, Kationen und Aspartat, der Stoffwechsel der Zelle aktiviert wird (48). Fournell (25) meint, daß die Aktivierung "in der spezifischen Verbindung des Kaliums und Magnesiums mit der Asparaginsäure begründet" ist und nicht erklärt werden kann "durch ein höheres Angebot von Kalium und Aspartat in der Zelle".

C) Histidin



Histidin ist eine basische Aminosäure mit dem Isoelektrischen Punkt bei 7,58 (11).
Der pK-Wert der α-COOH-Gruppe liegt bei 1,82,
der pK-Wert der α-NH_3-Gruppe bei 9,17 und
der pK-Wert der Imidazol-Gruppe bei 6,0.
Histidin ist die einzige Aminosäure, deren Rest einen pK nahe 7,0 besitzt. Sie ist auch die einzige Aminosäure mit einer merklichen Pufferwirkung bei pH 6-8 (42).
Histidin ist eine glucoplastische Aminosäure: Der Abbauweg geht über Glutaminsäure und Transaminierung zu α-Ketoglutarat, das in den Citronensäurezyclus eingeschleust wird. Beim Abbau wird N-Formininoglutaminsäure gebildet. Eine Formininogruppe (HN = CH-)wird abgespaltet, die mit Tetrahydrofolsäure reagiert. Das C_1-Bruchstück wird wieder zum Aufbau von Aminosäuren und Purinbasen verwendet. Es besteht also eine enge Beziehung zwischen Histidinauf- und Abbau, C_1- Stoffwechsel, der Purin- und Thymidylatsynthese (55).
Mit vielen Enzymen bildet Histidin das reaktive Zentrum. Sog. Histidinenzyme sind Glucose-6-Phosphatase, Succinyl-CoA-Synthetase, Phosphatübertragende Enzyme (55).
Eine besondere Bedeutung gewinnt Histidin im Hämoglobin. Die Hämgruppe bzw. das zentrale Eisenatom der Hämgruppe ist mit 6 Liganden verknüpft: 4 mit den Pyrrolstickstoff-

atomen des Häms und 2 mit dem Imidazolstickstoff zweier Histidinreste des Globulins (11). Bei Histidinmangel ist diese funktionell bedeutsame Verknüpfung gestört, was sich klinisch in einer Störung der Erythropoese auswirkt (39).
Histidin ist eine "bedingt" essentielle Aminosäure (11). Snyderman (69) stellte fest, daß Histidin essentiell ist für wenigstens die ersten zwei Jahre. Mit zunehmendem Alter sinkt der Bedarf bezogen auf das Körpergewicht. Kopple und Swendseid schlossen aus ihren Versuchen (39), daß Histidin auch ein essentieller Faktor für den Erwachsenen ist. Es bildet Chelatkomplexe mit 2-wertigen Kationen wie Mg^{++}, Cu^{++}, Zn^{++} und ist von Bedeutung für deren Transport und Resorption.
Die Histidinkonzentration im Blutplasma beträgt 4,9 - 16,6 mg/l (11,5 mg/l) (55).

3. Magnesium

Nach den Angaben der Dr. Franz Köhler Chemie, Alsbach/Bergstraße enthielten 15,625 ml des Stabilisators 56 mg Mg^{++} = 2,3 mmol Magnesium.
Die in beiden Stabilisatoren gemessenen Werte lagen niedriger als die Mg-Konzentration, die nach diesen Angaben enthalten sein sollte.
In Stab I blieb sie bei 33,48 mval/l bis zum 7. Tag in etwa konstant und stieg dann über 32,05 mval/l auf 38,79 mval/l am 21. Tag an.
In Stab II änderte sich die Mg-Konzentration mit 24,70 mval/l, 23,45 mval/l und 25,0 mval/l in dem untersuchten Zeitraum nicht.
Mit diesen Werten ist das Gesamt-Magnesium erfaßt, also gebundenes und freies.
Eine Abnahme der Mg-Konzentration war nur möglich durch Aufnahme des Magnesiums in die Zelle, die bis zum ersten Maßzeitpunkt erfolgt sein mußte. Dieselbe Beobachtung machte auch Schaible (67), dessen 1. Maßzeitpunkt meinem

zweiten entsprach. Nach diesem Zeitpunkt erfolgte keine weitere Mg-Aufnahme, weil die aktiven Transportvorgänge nach Abkühlung auf 4°C gehemmt waren.
Der Mg-Anstieg nach dem 14. Tag ging parallel mit einem Kaliumanstieg und einer Natriumabnahme im Serum (29). Groß (29) erklärte es damit, daß die Membran-ATPase inaktiviert wurde und es somit zum Ionenausgleich zwischen Intracellulärraum und Medium kam.

4. pH-Wert

Der pH-Wert des Blutes schwankt zwischen 7,37 und 7,43 (68). Seine Regulierung in diesen engen physiologischen Grenzen zeigt die Bedeutung der H^+-Ionenkonzentration für den Organismus und die ihn erhaltenden Stoffwechselvorgänge.
In ACD-Stabilisatoren liegt der Ausgangswert der H^+-Ionenkonzentration im sauren Bereich. Im geschlossenen System der Blutkonserve fällt er mit zunehmender Lagerungsdauer durch Anhäufung von Lactat noch weiter ab, was sich ungünstig auf die Qualität des konservierten Blutes auswirkt: Die Glycolyse wird zunehmend gehemmt (51), und damit die ATP- und 2,3-DPG-Bildung, die Parameter für Überlebensrate und Funktion der Erythrozyten. Beutler und Duron (7) meinen, daß der optimale pH-Wert für ACD-Stabilisatoren zu Beginn bei 5,0 und nach Durchmischung mit Blut zwischen 7,0 und 7,1 liegt, der dann durch den Temperaturabfall auf +4°C auf 7,5 ansteigt.
Bei Adeninzusatz liegt er bei 5,5.
Durch Zusatz von Puffern versuchte man, den pH-Abfall zu verhindern. So stellte Parpart et al. (in 34) fest, daß der Zusatz von Phosphatpuffer den pH-Wert während der gesamten Lagerungszeit konstant hielt. Er vermutete deshalb, daß ein pH von 6,7 bis 7,0 der ideale pH-Wert für die Konservierung sei. Der Einfluß des CPD-Stabilisators auf

Stoffwechsel und Überlebensrate der Erythrocyten ist jedoch nicht sehr groß, so daß er sich gegen den ACD-Stabilisator nur langsam durchsetzt (34).
Foth (24) zeigte, daß Zusatz von Histidin zum K-Mg-ACD-Stabilisator das 7 - 8fache der über der Norm liegenden Lactatkonzentration abpuffern konnte. Ihr pH-Wert lag jedoch mit 7,79 zu weit im alkalischen Bereich. Die Reduktion der Histidinkonzentration in Stab I mit pH 7,2 hob den pH-Wert nach Durchmischung mit Blut nur in den physiologischen Bereich auf pH 7,4 an, was den gewünschten Erwartungen im Hinblick auf den pH-Wert entsprach. Über die gesamte Lagerungsdauer gesehen, fiel er in Stab I mit 0,47 E auf pH 6,95 jedoch stärker ab als in Stab II mit 0,29 E auf pH 7,5.
Die größere Schwankungsbreite in Stab I und der zu alkalische Wert in Stab II zeigen, daß der optimale pH für den K-Mg-Aspartat-Stabilisator mit Histidinzusatz noch nicht gefunden ist, bzw. noch nicht die optimale Histidinkonzentration.

5. ATP

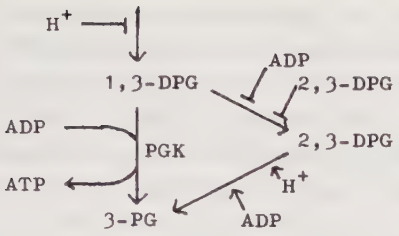
ATP kann als Indikator für die Überlebensrate der Erythrocyten in Blutkonserven angesehen werden (7, 54). Als Energielieferant hat es für die Zelle zentrale Bedeutung bei der Aufrechterhaltung des Ionengleichgewichts (1, 51, 77), der Erhaltung der Struktur der Blutzelle (5, 59, 77) und der Energiebereitstellung bei der Glycolyse zur weiteren Energiegewinnung.
Die Bemühungen um bessere Blutkonservierungsmittel zielten daher auch auf den Erhalt oder die Wiederbildung von ATP ab (7,23,76).
In Stab I lagen die ATP-Werte am Abnahmetag mit 0,434 mmol/l im Normalbereich. Aber schon am 1. Tag sank die Konzentration um 33,34 % und blieb dann bis zum 7. Tag konstant. Die Konzentrationsabnahme innerhalb des 1. Tages

erfolgte bei konstant bleibendem pH-Wert und unveränderter 2,3-DPG-Konzentration.
Im Gegensatz dazu fand Foth (24) wie auch Schaible (67) am 1. und 7. Tag ATP-Werte, die sich statistisch nicht unterschieden.
An den Konserven fiel auf, daß die Seren schon am 1. Tag hämolytisch waren (29), d.h., daß ein Erythrocytenzerfall stattgefunden haben mußte. Die Erythrocytenzahl nahm innerhalb des 1. Tages von 4,66 Mill./mm^3 um 24,3 % auf 3,53 Mill./mm^3 ab,und damit auch die Zahl der ATP-produzierenden Zellen (29). Dies zeigte sich, ohne eine Aussage über statistische Signifikanzen zwischen den einzelnen Tagen machen zu können, daran, daß das Verhältnis ATP zu Erythrocyten in etwa gewahrt blieb mit 0,093 am Abnahmetag, 0,082 am 1. Tag und 0,079 am 7. Tag. Der relativ stärkere Abfall innerhalb des 1. Tages könnte dadurch erklärt werden, daß bei Hämolyse ATPasen aktiviert wurden (34,55). Sie haben ihr pH-Optimum bei pH 7,0 - 10,0 (34,55).
Vom 1. zum 7. Tag konnte dann eine konstante Erythrocytenzahl bei hoher Glycolyserate ATP-Produktion und ATP-Verbrauch im Gleichgewicht halten.
Am 14. Tag fiel ATP aber um weitere 37,2 % auf 0,174 mmol/1 ab. Zum 21. Tag erfolgte eine leichte Konzentrationszunahme auf 0,196 mmol/l, die aber nicht signifikant war. Mit ATP fiel am 14. Tag auch 2,3-DPG und der pH-Wert auf 7,03 ab. Bei gleichbleibender Erythrocytenzahl zeigte sich nun bei einem ATP-Erythrocyten-Quotienten von 0,050 am 14. Tag und 0,058 am 21. Tag ein deutlich höherer ATP-Verlust als an den ersten drei Meßzeitpunkten.
Der Erhalt der ATP-Konzentration ist eng an die H^+-Ionenkonzentration gekoppelt. Ein niedriger pH-Wert hat zunächst einen günstigen Effekt auf die Erhaltung des ATP durch Hemmung der HK und PFK (23,54),zwei ATP verbrauchenden Reaktionen. Die zunehmende Lactatbildung senkt den pH weiter, was sich dann ungünstig auf den Energiestoffwechsel und Form und Eigenschaften der Zellmembran

auswirkt (23,54). Ergänzend zum Einfluß des pH-Wertes kommt hinzu, daß mit der Lagerungsdauer der ATP-Gehalt der Zelle abfällt, was als lagerungsbedingte Altersveränderung der Erythrocyten oder "storage lesion" bezeichnet wird (7,34,58). Bei beiden Mechanismen führt also der Mangel an ATP als Cosubstrat der HK-Reaktion zu einer verminderten Glycolyserate (11,23,36,54).
Das wäre auch bei unseren Ergebnissen denkbar, denn der gleichzeitige Abfall von 2,3-DPG läßt sich gut mit einer Inaktivierung der HK erklären.
Die konstant bleibende ATP-Konzentration vom 14. zum 21. Tag ging auf Kosten von 2,3-DPG, das weiter abnahm und seine Funktion als Phosphatreserve verdeutlicht (s.IV/6.)
Verglich man nun die beiden Stabilisatoren, so zeigte sich, daß in Stab I die ATP-Werte am Abnahmetag um 47,1 %, am 7. Tag um 33,4 % und am 21. Tag um 77 % über denen in Stab II lagen. Insgesamt fiel die ATP-Konzentration bis zum 21. Tag in Stab I um 45 %, in Stab II aber um 80 %.
Eine Erklärung für diese bemerkenswerten Unterschiede wird in IV 7. zu geben versucht.

6. 2,3-Diphosphoglycerat

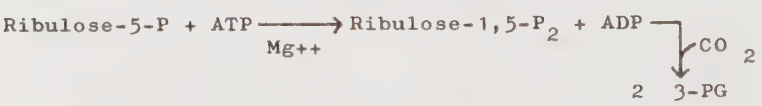
Die Bildung von 2,3-DPG auf dem Phosphoglyceratweg zweigt von 1,3-DPG ab, das auch Substrat der Phosphoglyceratkinase ist, bei der aus 1,3-DPG unter Bildung eines Moleküls ATP 3-PG entsteht. In der 2,3-DPG-Mutase-Reaktion wird von dem 1,3-DPG eine Phosphatgruppe auf ein Molekül 3-PG übertragen, wobei 1,3-DPG gebildet, und ein Molekül 3-PG frei wird. 2,3-DPG wird weiter in der 2,3-DPGase-Reaktion umgesetzt zu 3-PG und anorganischem Phosphat (21). Bei dem Weg über 2,3-DPG wird die Energie eines ATP-Moleküls verbraucht (77).



⊣ Hemmung
→ Aktivierung

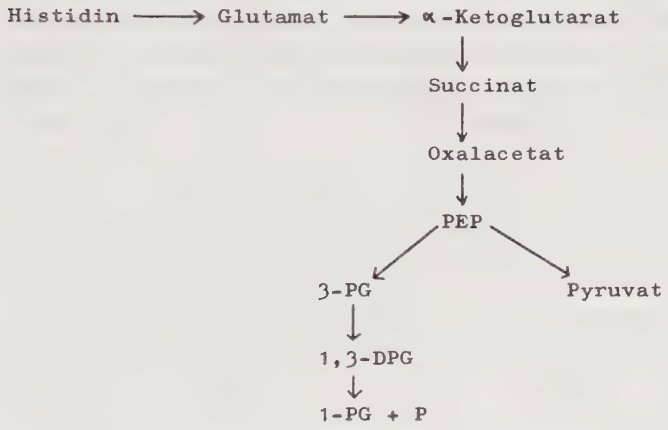
Die Regulation dieser Aufzweigung geschieht durch das Verhältnis von 1,3-DPG zu 2,3-DPG (35,56), das bedeutet durch das Verhältnis ADP/ATP (35). Erhöhung des 2,3-DPG führt durch kompetitive Hemmung der 2,3-DPG-Mutase zur ATP-Bildung. Rapoport (57,61) fand heraus, daß die ADP-Konzentration einen größeren Einfluß auf die Regulation dieser Aufzweigung hat als 2,3-DPG und ATP: Steigende ADP-Konzentrationen induzieren die PG-Kinase-Reaktion und führen zur Bildung von ATP, steigende ATP-Konzentrationen hemmen sie. ADP steigert auch die 2,3-DPG-Spaltung und führt so der PK vermehrt Substrat zur ATP-Bildung zu (66). Ein niedriger pH-Wert hat auf die 2,3-DPG-Konzentration einen ungünstigen Einfluß im Gegensatz zu ATP (1,8,71). Strauss et al. (71) fanden eine DPG-Abnahme auf 50 % in der 1. Woche bei pH 7.0. Ein Anheben des pH-Wertes von 6,9 auf 7,3 zu Beginn der Lagerung hielt die Konzentration in der 1. Woche aufrecht und war erst am 14. Tag auf 50 % abgesunken. Bei niedrigem pH wird weniger 1,3-DPG und 3-PG gebildet durch Hemmung im oberen Teil der Glycolyse, und damit auch weniger 2,3-DPG. Die Hemmung der 2,3-DPGase durch 3-PG wird dadurch aufgehoben und die 2,3-DPG-Konzentration fällt ab (76,77). 2,3-DPG übt seinerseits eine Hemmung auf die HK, PGK, Transketolase und Transaldolase aus. Damit regelt es die ATP-Gewinnung und das Verhältnis von Glycolyse und Pentosephosphatweg (43).

Im Widerspruch zu diesem Regulationsschema ergaben unsere Ergebnisse folgendes: Die 2,3-DPG-Konzentration blieb in den ersten 7 Tagen bei einem leichten Anstieg von 1,48 µmol/ml auf 1,67 µmol/ml statistisch konstant, während der pH-Wert absank. Dieses Verhalten stand auch im Gegensatz zu den Ergebnissen anderer Untersucher (1,8,13,38). Der Einfluß der H^+-Ionenkonzentration wurde jedoch im weiteren Verlauf dominierend. Die 2,3-DPG-Konzentration nahm bis zum 14. Tag um 50,22 % ab und bis zum 21. Tag um 68,67 %, was einer Konzentrationsabnahme auf 17,79 % gegenüber dem Ausgangswert entsprach. Die Aufrechterhaltung der ATP-Konzentration vom 14. zum 21. Tag ging damit auf Kosten des 2,3-DPG als Phosphatreserve. Die Ergebnisse zeigten somit eine höhere 2,3-DPG-Konzentration und deren besseren Erhalt im K-Mg-Aspartat-ACD-Stabilisator mit Histidinzusatz als ohne (38) aufgrund des höheren pH-Wertes. Kläger (38) stellte fest, daß im K-Mg-Aspartat-Stabilisator die 2,3-DPG-Konzentration trotz niedrigerem pH höher war als in reinen ACD-Stabilisatoren. Er führte dies auf die erhöhte Glycolyserate und eine Aktivierung durch Mg^{++}-Ionen zurück. Die stark erhöhte Glycolyserate, die eine Abnahme der 2,3-DPG-Konzentration während der 1. Woche verhinderte, kann auch als Erklärung für unsere Ergebnisse gelten. Die hohe Mg-Konzentration wirkt über die Aktivierung der Mg-abhängigen Enzyme in gleichem Sinne (66). Kläger (38) vermutete auch eine Erhöhung der 2,3-DPG-Konzentration, die eine hemmende Wirkung auf die 2,3-DPGase ausübt, durch folgenden Mg-abhängigen Nebenweg der Glycolyse (54):



Es bleibt allerdings die Frage, ob diese Faktoren zur Erklärung unserer Ergebnisse ausreichen, da sie die kontinuierliche und signifikante Konzentrationsabnahme im K-Mg-Aspartat-Stabilisator ohne Histidinzusatz nicht verhindern konnten, während die 2,3-DPG-Konzentration im K-Mg-Aspartat-Stabilisator + Histidinzusatz signifikant anstieg.

Neben dem von Kläger (38) vermuteten Nebenweg wäre es denkbar, daß auch die Verwertung von Histidin auf folgendem Weg zur hohen 2,3-DPG-Konzentration beitrug (54):



6 a) Die Bedeutung von 2,3-DPG für die Sauerstofftransportfunktion der Erythrocyten

2,3-DPG kommt in Erythrocyten in höherer Konzentration vor als in anderen Zellen (16,21,27,35). Rapoport (56) meint, die Entwicklung dieses Energieverschwendenden Nebenweges könnte zusammenhängen mit den geringen funktionellen Bedürfnissen des reifen Erythrocyten, die PGK-Reaktion würde also nur bei zusätzlichem ATP-Bedarf aktiviert. So sind die Ergebnisse von Versuchen verständlich, die zeigen, daß unter physiologischen Bedingungen der Anteil des 2,3-DPG-Weges größer ist als der der PK-Kinase-Reaktion (21,61,57).

Die Bedeutung des 2,3-DPG wurde zunächst in seiner Funktion als Phosphatreserve gesehen (21,34,63), die auch bei uns deutlich wird: die 2,3-DPG-Abnahme hält die ATP-Konzentration konstant. Ferner sollte 2,3-DPG für die Aufrechterhaltung des Elektrolytgleichgewichtes (21,27) notwendig sein. Das K^+-Gleichgewicht in den Erythrocyten wird durch 2,3-DPG aufrechterhalten. K^+ strömt erst aus der Zelle aus, wenn 2,3-DPG auf 5-10 % der Ausgangskonzentration abgesunken ist (27). Ob der K^+-Anstieg in den ersten 2 Wochen, der dann bis zur 3. Woche konstant blieb, damit in Zusammenhang steht, wird von Groß (29) diskutiert. Die entscheidende Bedeutung des 2,3-DPG für die Aufrechterhaltung der Funktion der Erythrocyten wurde erst durch Benesch und Benesch (4) und Chanutin und Curnish (15) erkannt. Aus der Gleichung (11)

$$HbO_2 + 2,3\text{-DPG} \rightleftharpoons Hb\text{-}2,3\text{-DPG} + O_2$$

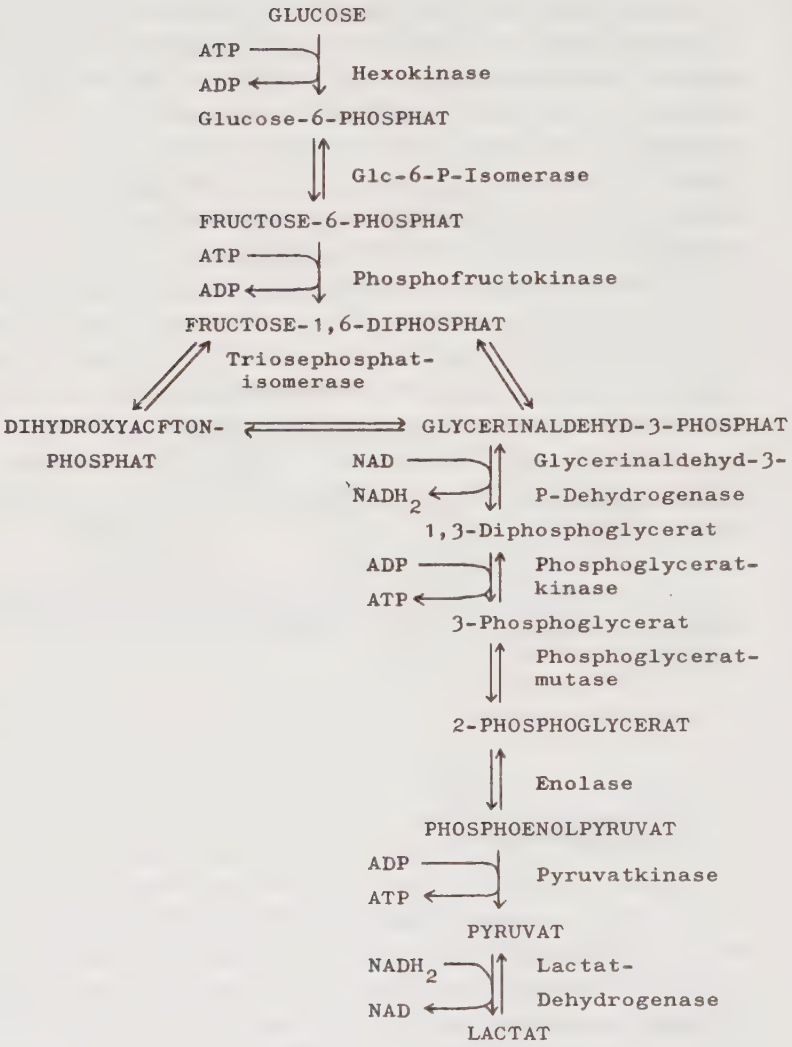
wird deutlich, daß sich 2,3-DPG mit dem reduzierten Hb verbindet, zu dem es eine viel höhere Affinität hat als zu HbO_2, und die O_2-Freisetzung fördert (26). Eine 2,3-DPG-Abnahme verschlechtert folglich die O_2-Freisetzung, d.h. die O_2-Affinität zu Hb wird erhöht und die O_2-Bindungskurve nach links verschoben (13).
Andere Faktoren, die die O_2-Bindungskurve beeinflussen, sind pH-Wert und Temperatur (68). Die Affinität des O_2 sinkt mit zunehmender Acidität, die O_2-Bindungskurve wird nach rechts verschoben. Die Affinität des 2,3-DPG zum Hb wird dabei erhöht (26). Bei sinkender Temperatur wird die O_2-Bindungskurve nach links verschoben, die Affinität des Sauerstoffs zum Hämoglobin nimmt zu.
Die gegenüber anderen untersuchten Stabilisatoren (38) höhere 2,3-DPG-Konzentration läßt vermuten, daß der K-Mg-Aspartat-Stabilisator mit Histidinzusatz eine geringere Verlagerung der O_2-Bindungskurve nach Transfusion bewirkt (73). Dies und die schnelle 2,3-DPG-Regeneration nach Transfusion (9) könnte von Vorteil sein bei Massivtransfusionen.

Es bleibt allerdings zu bedenken, daß die Mg • 2,3-DPG-Komplexbildung in Abhängigkeit von der Mg-Konzentration die Bindung an desoxygeniertes Hb vermindert und so die O_2-Affinität erhöht (5,13,28). Dies zeigten die Ergebnisse von Kläger (38): gegenüber dem ACD-Stabilisator war im Mg-Aspartat-ACD-Stabilisator trotz höherer 2,3-DPG-Konzentration die O_2-Affinität zum Hämoglobin erhöht.
Der Hinweis von Asakura et al. (3), die eine höhere Glycolyserate im desoxygenierten als im oxygenierten Zustand fanden, deutet auf eine günstige Beeinflussung der O_2-Bindungskurve in der Versuchsreihe mit Histidinzusatz hin. Asakura vermutete, daß dies durch einen Anstieg des intracellulären pH-Wertes bewirkt wird, der durch verminderte Dissoziation vom Hämoglobin zustande kommt. Im desoxygenierten Zustand des Hb steigt auch die Mg-Konzentration, die als Aktivator der HK wirkt, was zu einer 40 %-igen Steigerung der HK-Aktivität führt (28). Über eine Verminderung der freien ATP-Konzentration durch Bindung an desoxygeniertes Hb wird die HK und PFK enthemmt und die O_2-Affinität gesenkt (14).
Es ist also anzunehmen, daß der Zusatz von Histidin eine günstige Auswirkung auf die Sauerstofftransportfunktion ausübt.

7. Glycolyse

Die Glycolyse ist der Hauptstoffwechselweg der Erythrocyten (54), an dem 12 Enzyme beteiligt sind. Als Schrittmacherenzym, das die Glycolyserate bestimmt, wurde die Hexokinase erkannt (51). Die Phosphofructokinase und Pyruvatkinase sind als irreversible Reaktionen die anderen Kontrollpunkte, wobei der PFK als wichtigster

Anaerobe Glycolyse



Schaltpunkt die größere Bedeutung zukommt (19).
Die Regulation der Glycolyse ist jedoch weit komplizierter, da die Enzymaktivitäten auch von Substatkonzentrationen, Cofaktoren wie ATP und NADH, Produkten und Endprodukten und dem pH des Mediums abhängen (59). So ist es möglich, daß die Glycerinaldehyd-3-P-Dehydrogenase bei Phosphatmangel der begrenzende Schritt werden kann (54). Das pH-Optimum der Glycolyse liegt zwischen 8,2 und 8,5 und entspricht damit fast genau dem der Hexokinase (51).

7a) Glucose

Auf Grund der gleichen Versuchsanordnung konnte man davon ausgehen, daß sich die Glucoseanfangskonzentrationen in beiden Stabilisatoren nicht wesentlich unterschieden. Die Ergebnisse zeigten dann, daß in Stab II bis zum 1. Meßzeitpunkt sehr viel mehr Glucose umgesetzt wurde als in Stab I. Die Glucose-Konzentration in den Konserven mit Stab II betrug am Abnahmetag nur 57 % der Konzentration in Stab I.
Bei der Erforschung der Glycolyse stellte sich heraus, daß die H^+-Ionenkonzentration des Mediums einen wichtigen regulatorischen Faktor darstellt. Oeckel (51) beschrieb die gleichsinnige Abhängigkeit von Glycolyse und HK, die ein Aktivitätsmaximum bei pH 8,1 und fast keine Aktivität bei pH 6,0 besitzt.
In Stab II lag am Ab.Tag ein pH-Wert von 7,79 vor, was einer höheren Glycolyserate entsprach im Vergleich zum pH-Wert von 7,42 in Stab I.
Die pH-abhängige höhere Glycolyserate zeigte sich auch in der vermehrten Lactatbildung (60), die in Stab I nur 51,6 % der Lactat-Konzentration in Stab II betrug. Ebenso stimmte damit überein die um 47,1 % niedrigere ATP-Konzentration in Stab II als Zeichen für den erhöhten ATP-Verbrauch der HK und PFK (54), und auch die Akkumulation von Frct-1,6-P_2 (46,54,77), die weit über dem

Normalwert in Stab II um 50 % über der Konzentration in Stab I lag.
Die weiteren Kurvenverläufe ließen sich jedoch nicht mehr mit der pH-Abhängigkeit der Glycolyse erklären, im Gegenteil, sie verhielten sich geradezu paradox. Die Glucosekonzentration in Stab I, die schon innerhalb des 1. Tages signifikant fiel, sank bis zum 7. Tag um 38,6 %, während sie sich in Stab II nicht veränderte. Vom 7. zum 21. Tag fielen sie statistisch parallel auf den gleichen Endwert ab, wobei in Stab I noch 40 %, in Stab II 70 % der Ausgangskonzentration zu finden waren. Der pH fiel in dieser Zeit auf 7,23 am 7. Tag und 6,95 am 21. Tag in Stab I, in Stab II auf 7,63 am 7. Tag und 7,5 am 21. Tag. Kläger (38) fiel ebenfalls eine insgesamt stärkere Glucoseabnahme im K-Mg-Aspartat-Stabilisator gegenüber dem ACD-Stabilisator trotz niedrigerem pH-Wert auf. Munz (50) hatte ähnliche Ergebnisse.
Der Glucoseumsatz durch die HK als Schrittmacher der Glycolyse (51) wird nicht nur durch die H^+-Ionenkonzentration beeinflußt, sondern durch mehrere andere Faktoren, so durch die Glucosekonzentration, die aber im Sättigungsbereich liegt (35). Glc-6-P und Glc-1,6P_2 hemmen die HK (35,59). Die HK-Aktivität wird hauptsächlich durch den Mg^{++}ATP/Glc-6-P-Quotienten bestimmt (35), d.h., daß ein hoher Mg^{++}/ATP-Quotient die HK aktiviert, ein hoher Glc-6-P-Spiegel sie hemmt (59). Zum Einfluß von Veränderungen der Mg-Konzentration auf die HK siehe auch IV.2.
Kläger (38) führte den höheren Glucoseumsatz im K-Mg-Aspartat-Stabilisator auf die aktivierende Wirkung der Mg-Ionen zurück. Schaible (67) tat dies nur unter Vorbehalt, da 1. kein intracellulärer Mg-Mangel vorliege, 2. die Mg-Aufnahme nur in den ersten 24 Stunden erfolgen könne, weil nach Abkühlung auf +4°C die aktiven Transportvorgänge beeinträchtigt seien.
War die erhöhte Glycolyserate dem Einfluß des K-Mg-Aspartat zuzuschreiben, dann bleibt allerdings die Frage, warum bei gleicher zugesetzter Mg-Konzentration die

Glucosekonzentration in Stab I so enorm abnahm, während sie in Stab II über 7 Tage konstant blieb.
Geht man davon aus, daß die Versuchsbedingungen für beide Versuchsreihen die gleichen waren, dann lag der einzige Unterschied in der niedrigeren Histidinkonzentration in Stab I.
Histidin bildet wie Aspartat Chelatkomplexe mit Mg-Ionen (17,63), seine Affinität zum Intracellulärraum ist aber viel geringer als die von Aspartat (25).
Bei der höheren Histidinkonzentration in Stab II könnte man daher annehmen, daß mehr Mg-Ionen im Extracellulärraum gebunden wurden als in Stab I. Daß dies nicht der Fall war, zeigt die niedrigere gemessene Mg-Konzentration in Stab II. Man muß also davon ausgehen, daß in Stab II mehr Magnesium aufgenommen wurde, was auf die höhere Histidinkonzentration zurückzuführen ist. Die aktivierende Wirkung der Mg-Ionen in Verbindung mit dem höheren pH-Wert führte dazu, daß bis zum 1. Meßzeitpunkt in Stab II mehr Glucose umgesetzt wurde als in Stab I. Bei pH-Werten unter 7,58 liegen immer mehr Histidinmoleküle als Kationen vor (11), die als positiv geladene Ionen die Zellmembran nicht permeieren und keine Bindung mit Mg-Ionen eingehen können. Aufgrund der geringeren Histidinkonzentration, und wieder als Auswirkung des pH-Wertes, wurden in Stab I damit weniger Mg-Ionen intracellulär aufgenommen, was zu einer geringeren Enzymaktivierung und damit geringeren Glucoseumsetzung führte.
Das Sistieren der Glucoseumsetzung nach dem 1. Meßzeitpunkt in Stab II kann folgendermaßen erklärt werden:
Der hohe pH-Wert führte zu einer Erschöpfung des ATP durch einen hohen Glucoseumsatz in der HK und PFK-Reaktion (54). Die niedrige ATP-Konzentration macht deshalb wahrscheinlich, daß nicht genügend ATP vorhanden war zur Bildung eines Mg-ATP-HK-Komplexes: Die HK war gehemmt. Die bis zum 7. Tag konstante ATP-Konzentration zeigte dann, daß die Energiegewinnung über einen anderen Weg als Glucoseabbau laufen mußte. Da die 2,3-DPG-Konzentration in

Stab II nicht gemessen wurde, läßt sich nicht sagen, ob die ATP-Konzentration auf seine Kosten konstant blieb. Es wäre auch denkbar, daß über den Abbau von Histidin ein Zufluß zur Glycolyse auf der Ebene von 1,3-DPG stattfand (54). Dies könnte sowohl den ATP-Spiegel aufrechterhalten als auch über Rückstau die Umsetzung von Frct-1,6-P_2 und DAP verhindern, die in Stab II nach dem starken Glucoseabbau in hoher Konzentration vorlagen. Nach dem 7. Tag fiel Glucose ab. Trotz der oben beschriebenen niedrigen ATP-Konzentration wurde die HK aktiviert und setzte Glucose um. So wird fraglich, ob die geringe ATP-Konzentration wirklich die Ursache der HK-Hemmung in der ersten Woche war. In Stab II, in dem sie zwar höher, aber auch unter dem Normalwert lag, reichte sie für eine kontinuierliche Glucoseumsetzung aus. Es ist auch möglich, daß Wegnahme einer Hemmung, dh., Sistieren aus dem Histidinzufluß, den Glucoseabbau förderte.
In beiden Stabilisatoren wirkte sich der Glucoseabbau aber nicht auf die nachfolgenden Glycolysezwischenprodukte aus. Außer GAP zeigten alle in der 2. und 3. Woche einen steilen Abfall, Pyruvat und Lactat einen entsprechenden Anstieg. Für dieses Verhalten kann keine genaue Erklärung gegeben werden. Wahrscheinlich waren mehrere Faktoren beteiligt wie pH-Wert, Temperatur, ATP-Mangel, der als Ursache der "Storage lesion" angesehen wird (58).

7b) Glucose-6-Phosphat und Fructose-6-Phosphat

Der Verlauf der Glc-6-P-Kurve unterlag starken Schwankungen, von denen nur der Anstieg vom 1. zum 7. Tag signifikant war. Ähnlich verhielt sich die Kurve von Frct-6-P, die einen Gipfel am 7. Tag zeigte. Dieser Anstieg ist wohl nicht auf eine pH bedingte Hemmung der PFK zurückzuführen (46,62), da die Mittelwerte in beiden Stabilisatoren unter dem Normalwertbereich lagen (18), Frct-1,6-F_2

am Abnahmetag mit 43,45 nmol/ml aber weit darüber und bis zum 7. Tag noch weiter auf 74,47 nmol/ml anstieg. Das Verhältnis von Glucose-6-P zu Fructose-1,6-P_2 entsprach damit den Bedingungen bei aktivierter Glycolyse (46). Auch Minakami et al. (zitiert in 54) fanden in der 1. Woche einen steilen Anstieg von Glc-6-P, aber einen geringeren des Frct-1,6-P_2, und weiter einen Abfall beider Verbindungen auf den Ausgangswert nach 3 Wochen. Für Glc-6-P und auch Frct-6-P fanden wir entsprechende Verläufe, nicht dagegen für Frct-1,6-P_2, das weit unter den Ausgangswert absank.
Statistisch war zwischen Stabilisator I und II kein Vergleich möglich, da in Stab II an keinem Tag Gluc-6-P oder Frct-6-P nachgewiesen werden konnte.

7c) Fructose-1,6-Diphosphat

Der um 50 % höhere Ausgangswert in Stab II blieb bis zum 7. Tag konstant, während die Frct-1,6-P_2-Konzentration in Stab I um 42 % anstieg, entsprechend dem starken Glucoseumsatz, und sich damit statistisch nicht mehr von der Konzentration in Stab II unterschied. Am 14. und 21. Tag war Frct-1,6-P_2 in Stab I noch in geringen Mengen, in Stab II war es am 21. Tag nicht mehr nachweisbar.
Die Bildung von Frct-1,6-P_2 aus Frct-6-P durch die PFK-Reaktion unterliegt einer Vielzahl an regulatorischen Einflüssen (35,40,57,59,77): Sie ist abhängig von der Frct-6-P-Konzentration und damit von der vorangehenden HK-Reaktion, wobei ein niedriger Frct-6-P-Spiegel die PFK aktiviert, ein hoher sie hemmt. Eine niedrige Konzentration an Frct-1,6-P_2 fördert die Reaktion ebenfalls. Das pH-Optimum der PFK liegt bei 8,4.
Eine niedrige H^+-Ionenkonzentration wirkt sich auf die PFK stärker aus als auf die HK (46,59). Als Folge davon wird Glc-6-P gestaut und steigt an (77).

Eine hohe Konzentration an freiem ATP hemmt die PFK, anorganisches Phosphat, AMP und ADP aktivieren sie. Der Einfluß der Mg-Ionen und des ATP/Mg^{++}-Quotienten wurde schon in IV.2. besprochen.
Außer diesen unmittelbar an der Reaktion beteiligten Substanzen haben auch reaktionsferne Produkte Einfluß auf die PFK-Aktivität wie 2,3-DPG, Lactat und Citrat (35,59). Die Citrathemmung der PFK kann durch anorganisches Phosphat, Frct-6-P und sekundär durch Frct-1,6-P_2 aufgehoben und durch ATP verstärkt werden (35,53). Citrat und Frct-6-P regeln somit nicht nur die Glycolyse, sondern auch die Substrate des Citratcyclus (53).
Aufgrund der hohen Frct-1,6-P_2-Konzentration in beiden Stabilisatoren war eine Citrathemmung zumindest in der 1. Woche unwahrscheinlich. Später war eher der Einfluß des pH-Wertes und des ATP von Bedeutung.
Zu einem Anstieg von Fructose-1,6-P_2 kommt es bei hoher Glycolyserate aus 3 Gründen (54): 1. Es findet eine vermehrte Bildung von Frct-1,6-P_2 statt. Die begrenzte Enzymaktivität der Aldolase führt zu einem Rückstau. 3. Ein begrenztes Phosphatangebot für die PGADH-Reaktion führt ebenfalls zu einer Akkumulation.

7d) Glycerinaldehyd-3-Phosphat (GAP) und Dihydroxyacetonphosphat (DAP)

Der gesteigerten Glycolyserate entsprachen über dem Normalwert liegenden Konzentrationen an GAP und DAP (77). GAP zeigte über den ganzen Untersuchungszeitraum keine statistisch signifikanten Veränderungen. Im Gegensatz dazu stieg DAP innerhalb des 1. Tages um das 2,9fache an. Am 7. Tag fiel es um die Hälfte ab. Am 14. und 21. Tag lag die DAP-Konzentration wie die Frct-1,6-P_2-Konzentration unter dem Normalwert.

Der Vergleich mit dem Konzentrationsverlauf in der Gruppe II zeigte bei DAP, daß es von einer um 43 % höheren Konzentration ausging, sich am 7. Tag statistisch aber nicht mehr von der Konzentration in Stab I unterschied. Am 21. Tag war in Stab II kein DAP mehr nachweisbar. Die DAP/GAP-Quotienten in Stab I von 4,9 am Abnahmetag, 14,57 am 1. Tag, 9,86 am 7. Tag, 0,87 am 14. Tag und 1,46 am 21. Tag zeigten eine relativ stärkere DAP-Bildung in der 1. Woche. Die niedrigen Quotienten am 14. und 21. Tag beruhten auf einer Abnahme der DAP-Konzentration. Ein chemisches Gleichgewicht, das zu 95 % auf der Seite von DAP liegt (11), stellte sich nicht ein.
Die gleichbleibende GAP-Konzentration läßt sich aus der Bildung über den Pentosephosphatweg (PPW) erklären. Glycerin-3-P ist ein Endprodukt des PPW. 10 - 20 % seiner Energie gewinnt der Erythrocyt aus dem PPW (43,54). Bei Zunahme der H^+-Ionenkonzentration nehmen PPW und Glycolyse ab, der Anteil des PPW nimmt aber relativ zur Glycolyse zu (43,54,66), da das pH-Optimum des PPW bei 7,6 (43), das der Glycolyse bei 8,3 liegt (51). Der PPW zeigt keine nennenswerte Aktivitätsminderung im schwach sauren Milieu (63). Raderecht (54) nimmt an, daß dieser Weg nach längerer Lagerungsdauer von Bedeutung ist. Trotzdem konnte bei uns über diesen Weg das Absinken von 2-PG, 2,3-DPG, PEP und ATP nicht verhindert werden.

7e) 2-Phosphoglycerat (2-PG)

Die 2-PG-Kurven verliefen über den ganzen Beobachtungszeitraum parallel. Die Ausgangskonzentration in Stab I lag um 30 % niedriger. Bis zum 7. Tag war in beiden Stabilisatoren keine Konzentrationsveränderung feststellbar. Am 21. Tag fand man noch 37 % bzw. 38 % der Ausgangskonzentration.
2-PG steht mit 3-PG im Gleichgewicht, das Produkt der PG-Kinase-Reaktion und 2,3-DPGase-Reaktion ist. Seine

Konzentration ist damit auch abhängig von der vorausgehenden PGADH-Reaktion.
Im Kapitel Fructose-1,6-P_2 wurde schon erwähnt, daß bei hoher Glycolyserate die PGADH-Reaktion zum begrenzenden Schritt werden kann, was sich auf die Konzentration der nachfolgenden Zwischenprodukte auswirkt. Die 2-PG-Konzentration wurde zwar bis zum 7. Tag in beiden Gruppen konstant gehalten, sie lag aber nicht mehr so weit über dem Normalwertbereich wie die Zwischenprodukte im oberen Teil der Glycolyse. (Der Normalwertbereich ist allerdings schwer anzugeben, da die Angaben in der Literatur (18) stark schwanken). Vor allem lag die 2,3-DPG-Konzentration unterhalb des Normbereiches. Daraus kann man schliessen, daß der begrenzende Schritt auf der Ebene der PGADH liegt. Der Fructose-1,6-P_2-Anstieg in Stab I in der 1. Woche wäre somit auch darauf zurückzuführen. Die Ausgangssituation, daß bis zum 1. Meßzeitpunkt in Stab II mehr Glucose umgesetzt wurde, spiegelte sich auch noch in der 30 % höheren 2-PG-Konzentration in Stab II wieder. Die Parallelität der Kurven zeigte weiter deutlich die Wirkung der verschiedenen Histidinkonzentration.

7f) Phosphoenolpyruvat (PEP)

Der Schritt von 2-PG zu PEP wird durch das Enzym Enolase katalysiert.
Innerhalb des ersten Tages fiel PEP signifikant ab, stieg aber bis zum 7. Tag wieder auf den Ausgangswert an.

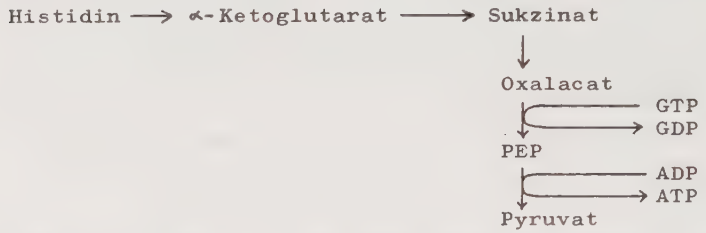
Beim Vergleich zeigte sich folgendes: Am Abnahmetag lag die Konzentration in Stab I höher, in Stab II lag sie am 7. Tag höher. Am 21. Tag war die PEP-Konzentration in beiden Stabilisatoren auf den gleichen Endwert abgefallen.

Die signifikante Konzentrationsabnahme in Stab I am 1. Tag ging parallel mit einem signifikanten Lactatanstieg. Der Anstieg zum 7. Tag beruhte entweder auf der hohen Glycolyserate oder auch auf einem Zufluß von Histidin (s. Pyruvat).

7g) Pyruvat

Die Umwandlung von PEP zu Pyruvat ist ein ATP-gewinnender Schritt, der durch das Enzym Pyruvatkinase (PK) katalysiert wird.
Die PK wird gehemmt durch ATP und 2,3-DPG, ein steigender pH-Wert vermindert die ATP-Hemmung und die Bindung an PEP (34). Aktiviert wird sie durch MgATP und MgADP (35) und K-Ionen (56).
Die Pyruvatkonzentration blieb bis zum 7. Tag innerhalb des Normbereiches konstant. Am 14. Tag war sie auf das 14fache der Ausgangskonzentration angestiegen. Der weitere Anstieg bis zum 21. Tag war statistisch nicht signifikant.
Diese Ergebnisse stehen im Gegensatz zu denen von Junger (37), Kuhnle (41) und Kläger (38), die einen Pyruvat-Anstieg bis zum 8. Tag feststellten und danach einen signifikanten Konzentrationsabfall.
Reinauer und Bruns (63) halten die Anhäufung von Pyruvat für ein "zuverlässiges Indiz" für eine Hemmung der Glycolyse oberhalb der Triosephosphatstufe, wobei die Pyruvatanhäufung durch 2,3-DPG-Abbau zustande kommt. Pyruvat kann Mangels $NADH_2$ nicht mehr weiterreagieren.
Der starke Pyruvat-Anstieg zum 14. Tag könnte durch die Abnahme der 2,3-DPG- und PEP-Konzentration bedingt sein. 2,3-DPG nahm in diesem Zeitraum um 0,84 µmol/ml und PEP um 0,017 µmol/ml ab, gegenüber einer Pyruvatzunahme um 0,5986 mmol/l. Für die gleichzeitige Lactatzunahme um 3,46 mmol/l reichte sie aber nicht aus. Das Lactat konnte somit - über Pyruvat - nicht nur aus der Glycolyse stammen.

Pyruvatbildung ist aus Histidin möglich über folgenden Weg (54):



Pyruvat kann über den gleichen Weg auch aus Aspartat gebildet werden (54).

Wie groß der Anteil der Pyruvatbildung aus Histidin bzw. Aspartat war, kann aber nicht gesagt werden.

Quantitativ dürfte die Pyruvatbildung aus diesen beiden Aminosäuren nicht die größte Rolle gespielt haben. Sie waren wahrscheinlich beteiligt an der PEP-Konzentrationszunahme zum 7. Tag, konnten aber eine Abnahme bis zum 21. Tag nicht verhindern. Allerdings fiel die PEP-Konzentration nicht unter den Normalwert ab.

Eine weitere Möglichkeit besteht darin, daß der Abbau des Pyruvats im Citratcyclus behindert war. Mit der Reifung verliert der Erythrocyt die Enzyme des Citratcyclus, d.h., er hat nur einen unvollständigen Citratcyclus (54, 58). Die Pyruvatweiterverarbeitung im Citratcyclus ist deshalb nur in den Leukocyten und in geringerem Umfang auch in den Thrombocyten möglich (54). Leukocyten und Thrombocyten reagieren aber sehr empfindlich auf die unphysiologischen Konservierungsbedingungen (34,44). Die Ergebnisse von Groß (29) zeigten, daß die Leukocytenzahl von $5{,}5 \times 10^3$ auf $3{,}95 \times 10^3$ am 7. Tag abfiel und damit an der unteren Normgrenze lag. Am 14. Tag war sie weiter auf $2{,}8 \times 10^3$ abgesunken und blieb dann bis zum 21. Tag konstant.

Beim Zerfall der Leukocyten werden die Enzyme freigesetzt, und man würde eher einen Pyruvatabfall erwarten, was aber den Ergebnissen unter Konservierungsbedingungen wider-

sprach (24,37,38). Kuhnle (41) und Junger (37) deuteten ihre Ergebnisse so, daß der Abbau des Pyruvats über den Citratcyclus bis zum 8. Tag gestört wurde und damit zu einem Pyruvatstau führte.
Diese Hemmung des Pyruvatabbaus spielte in dem von uns untersuchten Stabilisator erst in der 2. Woche eine Rolle, wenn der aktivierte Stoffwechsel, der bei den Erythrocyten zu sehen ist, und sich wohl auch in den Leukocyten abspielt, zunehmend inaktiviert wird.
Der parallele Verlauf der Pyruvatkurven in Stab I und II zeigte damit nicht nur die Auswirkungen verschiedener Histidinkonzentrationen, sondern auch eine günstigere Auswirkung auf den Stoffwechsel konservierten Blutzellen gegenüber anderen Stabilisatoren in der 1. Lagerungswoche.

7h) Lactat - Pyruvat

Im Erythrocyten ist Lactat das Endprodukt der Glycolyse. Die Umwandlung von Pyruvat in Lactat geschieht durch das Enzym Lactatdehydrogenase. An dieser Reaktion ist $NADH_2$ als Coenzym beteiligt, das aus der PGADH-Reaktion stammt (11,60). Die Lactatbildung nimmt mit steigendem pH zu, wobei Pyruvat abnimmt (60).
Die Lactatkonzentration lag am Abnahmetag im Normbereich, stieg aber schon innerhalb des 1. Tages bis an seine obere Grenze an. Der steilste Anstieg erfolgte bis zum 7. Tag, danach kontinuierlich bis zum 21. Tag auf etwa das 13fache des Ausgangswertes.
In Stab II lag die Lactatkonzentration zu Beginn doppelt so hoch wie in Stab I, dann stieg sie aber weniger stark an und betrug am 7. Tag nur 77 % und am 21. Tag nur 82 % der Konzentration in Stab I.
Konzentrationsverschiebungen zwischen Pyruvat und Lactat zeigt der Lactat/Pyruvat-Quotient:

	Stab I	Stab II
Ab.Tag	19,82	90,11
1.Tag	40,39	
7.Tag	120,16	189,50
14.Tag	18,65	
21.Tag	20,44	22,79

In beiden Stabilisatoren stieg die Lactatbildung in der 1. Woche überproportional an, obwohl aufgrund des sinkenden pH-Wertes eine Abnahme des Lactat/Pyruvat-Quotienten erwartet worden wäre (60). Der höhere Quotient in Stab II läßt sich aber gut mit dem höheren pH-Wert in dieser Konserve erklären, was auch einer höheren Glycolyserate bis zum 1. Meßzeitpunkt entspricht.
Die Verlagerung des Gleichgewichts zur Seite von Lactat bedeutet, daß genügend $NADH_2$ zur Reduktion von Pyruvat zu Lactat zur Verfügung stand, das aus der PGADH-Reaktion stammte. Weiter war zu diesem Zeitpunkt die Aktivität der $NADH_2$-Oxygenasen, deren pH-Optimum bei pH 6,4 liegt, gering (60).
In der 2. Woche und in der 3. Woche sank der Lactat/Pyruvat-Quotient in beiden Stabilisatoren ab. Der zugrunde liegende Pyruvatanstieg kann verursacht sein durch die schon oben beschriebenen Möglichkeiten. Hinzu kommt noch eine Verschiebung im $NADH_2$/NAD-System, sei es durch Enthemmung der $NADH_2$-Oxygenasen oder anderer $NADH_2$-oxydierender Systeme.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Das Blut von 30 Spendern wird in einem bestimmten Kalium-Magnesium-Aspartat-ACD-Stabilisator mit Histidinzusatz konserviert und am Abnahmetag, am 1., 7., 14. und 21. Tag auf Parameter des Kohlenhydratstoffwechsels, auf pH-Wert, ATP- und Magnesiumgehalt untersucht.
Die Parameter Glucose, Fructose-1,6-Diphosphat, 2-Phosphoglycerat, Phosphoenolpyruvat, Pyruvat, Lactat, Magnesium und ATP werden mit den Ergebnissen eines Kalium-Magnesium-Aspartat-ACD-Stabilisators verglichen, der sich nur durch eine höhere Histidinkonzentration unterscheidet.
Der Vergleich zeigt folgendes:

1.) Die Senkung der Histidinkonzentration bewirkt eine Senkung des pH-Wertes in den phyiologischen Bereich. Die Pufferwirkung des Histidin reicht aber nicht mehr dazu aus, den lactatbedingten pH-Abfall auszugleichen. Es wird angenommen, daß die unterschiedliche H-Ionenkonzentration über den Ionisationszustand des Histidins die verschiedenen Kurvenverläufe der Parameter der Glycolyse, besonders der Glucose, bewirkt.

2.) Die höhere Magnesiumkonzentration in Stabilisator I kann über den gleichen Mechanismus erklärt werden.

3.) ATP liegt in Stab I höher als Folge des niedrigeren pH-Wertes.

4.) Bei 2,3-Diphosphoglycerat ist kein Vergleich mit Stab II möglich. Gegenüber reinen ACD-Stabilisatoren und Kalium-Magnesium-Aspartat-Stabilisatoren ohne Histidinzusatz wird es aufgrund des höheren pH-Werts besser konserviert. Eine eindeutige Aussage über die Auswirkung auf die Sauerstofftransportfunktion kann nicht gemacht werden, da dazu andere wichtigere Parameter nötig sind.

5. Quantitativ ist der Glucoseumsatz in beiden Stabilisatoren gleich. Im Stab II erfolgt der wesentliche Umsatz aber schon vor dem 1. Meßzeitpunkt, in Stab I kontinuierlich über die gesamte Untersuchungsdauer. Dies hat ein unterschiedliches Verhalten der Glycolysezwischenprodukte in der 1. Woche zur Folge. In der 2. und 3. Woche fallen sie in beiden Stabilisatoren gleich steil ab.
   Pyruvat- und Lactatbildung sind in Stab I stärker, was auf die pH bedingte kontinuierliche Glucoseumsetzung zurückzuführen ist.

Die Reduktion der Histidinkonzentration bringt eine Verbesserung der Konservierung besonders hinsichtlich ATP. Ungünstig ist die starke Lactatbildung, deren Auswirkung in anderen Versuchen festgestellt werden muß. Ebenso sind noch genaue Untersuchungen über die Sauerstofftransportfunktion wünschenswert.

Weitere Untersuchungen sollten auch gemacht werden zur Bestätigung des Hinweises einer besseren Konservierung von 2,3-Diphosphoglycerat, besonders im Hinblick auf seine Bedeutung für die Sauerstofftransportfunktion der Erythrozyten.

VI. TABELLARISCHER ANHANG

1. Magnesium (mval/l)

	Ab.Tag	1.Tag	7.Tag	14.Tag	21.Tag
1	45,09	36,66	39,50	43,27	44,64
2	47,68	38,34	37,61	37,90	45,51
3	46,51	37,62	40,50	38,02	44,74
4	46,90	37,61	39,25	39,37	45,66
5	45,89	37,46	37,66	39,18	45,12
6	45,68	37,19	38,49	42,95	46,01
7	44,85	47,59	50,81	50,65	51,34
8	39,93	48,56	53,25	50,71	51,11
9	46,82	47,89	52,34	50,56	51,85
10	46,43	48,20	49,33	48,70	52,54
11	46,17	47,28	49,84	50,35	52,37
12	46,30	49,03	50,61	50,58	51,91
13	30,16	29,50	29,48	23,78	31,51
14	28,70	28,37	30,11	23,73	30,74
15	29,48	28,98	28,97	24,08	31,67
16	29,60	28,62	27,69	23,76	30,66
17	28,41	27,78	26,79	23,67	30,87
18	28,36	28,29	28,79	23,71	30,09
19	22,93	22,03	26,95	22,66	31,80
20	22,88	22,00	26,36	22,63	30,07
21	23,04	22,24	26,75	22,74	31,93
22	23,11	22,18	27,70	22,86	31,70
23	23,07	22,24	26,63	22,84	31,27
24	22,80	22,16	26,87	22,81	31,92
25	23,64	27,11	26,31	23,41	33,97
26	23,57	27,14	26,30	23,26	34,23
27	23,92	28,15	26,97	23,39	34,54
28	24,04	27,92	26,75	23,25	34,67
29	24,28	27,96	26,54	23,39	34,54
30	24,09	27,99	27,04	23,35	34,57

1.a) Magnesium (mval/l)

	Ab.Tag	7.Tag	21.Tag
1	25,909	23,885	22,428
2	24,955	25,728	21,671
3	25,967	25,909	21,975
4	25,399	26,667	25,070
5	15,193	25,572	22,362
6	25,868	25,819	24,461
7	24,477	25,251	24,708
8	24,593	24,691	24,354
9	24,296	24,568	24,170
10	23,547	21,967	24,856
11	24,962	23,695	24,510
12	25,119	22,436	24,173
13	25,975	22,840	23,399
14	23,259	21,868	26,305
15	24,123	23,292	26,099
16	23,901	22,535	27,383
17	25,712	22,733	26,255
18	25,144	22,963	26,626
19	26,321	22,790	26,305
20	24,461	22,412	25,770
21	24,420	22,881	26,263
22	23,770	22,749	26,008
23	23,753	22,568	27,342
24	23,300	21,391	26,988
25	23,095	21,383	25,720

a) kennzeichnet die Tabellen des Stabilisators mit höherer Histidinkonzentration (Stab II)

2. pH

	Ab.Tag	1.Tag	7.Tag	14.Tag	21.Tag
1	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-
7	7,36	7,40	7,26	7,10	7,03
8	7,39	7,41	7,25	7,12	7,07
9	7,42	7,47	7,31	7,17	7,13
10	7,40	7,42	7,22	7,09	7,00
11	7,40	7,45	7,33	7,17	7,04
12	7,48	7,47	7,29	7,15	7,06
13	7,45	7,40	7,23	6,97	6,83
14	7,44	7,46	7,28	7,05	6,93
15	7,48	7,48	7,36	7,05	6,93
16	7,48	7,45	7,24	7,00	6,92
17	7,49	7,44	7,22	7,02	6,91
18	7,42	7,42	7,22	7,01	6,90
19	7,38	7,34	7,21	7,03	6,95
20	7,41	7,37	7,21	7,03	6,93
21	7,39	7,39	7,16	6,98	6,89
22	7,43	7,37	7,17	7,00	6,95
23	7,42	7,40	7,21	7,01	6,98
24	7,43	7,40	7,23	7,01	6,98
25	7,41	7,43	7,20	6,96	6,97
26	7,43	7,43	7,19	6,99	6,90
27	7,41	7,42	7,20	6,94	6,90
28	7,43	7,46	7,16	6,92	6,83
29	7,40	7,43	7,25	6,94	6,93
30	7,39	7,35	7,16	6,91	6,85

2.a) pH

	Ab.Tag	7.Tag	21.Tag
1	-	8,05	7,37[x]
2	-	7,99	7,23[x]
3	-	8,04	7,36[x]
4	-	8,04	7,34[x]
5	-	7,93	7,25[x]
6	-	8,02	7,24[x]
7	7,75	7,42	7,70[x]
8	7,72	7,49	7,68[x]
9	7,74	7,48	7,68[x]
10	7,81	7,51	7,70[x]
11	7,77	7,49	7,71[x]
12	7,76	7,44	7,54[x]
13	7,64	7,58	7,74[x]
14	7,73	7,67	7,74[x]
15	7,69	7,59	7,70[x]
16	7,68	7,65	7,56[x]
17	7,72	7,63	7,09[x]
18	7,62	7,53	7,62[x]
19	8,02	7,84[x]	7,36[x]
20	7,93	7,81[x]	7,49[x]
21	7,93	7,87[x]	6,85[x]
22	7,90	7,75[x]	7,53[x]
23	7,90	7,77[x]	7,42[x]
24	7,93	7,81[x]	6,85[x]

[x] Plasma hämolytisch

3. pH (nach 6 Stunden)

	Ab.Tag	1.Tag	7.Tag	14.Tag	21.Tag
1	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-
7	7,49	7,50	7,33	7,21	7,02
8	7,51	7,52	7,37	7,19	7,07
9	7,52	7,59	7,36	7,23	7,11
10	7,48	7,46	7,27	7,14	7,01
11	7,47	7,49	7,36	7,20	7,08
12	7,51	7,47	7,34	7,19	7,08
13	7,47	7,39	7,16	6,99	6,94
14	7,44	7,43	7,24	7,03	7,04
15	7,49	7,49	7,25	7,03	7,00
16	7,52	7,43	7,23	7,02	6,98
17	7,54	7,42	7,22	7,00	7,02
18	7,45	7,40	7,22	6,98	6,97
19	7,41	7,42	7,27	7,08	7,00
20	7,44	7,38	7,29	7,05	6,94
21	7,39	7,36	7,21	6,99	6,95
22	7,42	7,37	7,24	6,97	6,97
23	7,44	7,40	7,25	6,99	6,98
24	7,44	7,38	7,30	7,05	6,98
25	7,45	7,53	7,24	6,96	6,95
26	7,45	7,52	7,22	6,99	6,87
27	7,43	7,47	7,22	6,95	6,87
28	7,46	7,50	7,17	6,91	6,80
29	7,43	7,47	7,23	6,91	6,86
30	7,42	7,38	7,17	6,87	6,82

4. ATP (mmol/l)

	Ab.Tag	1.Tag	7.Tag	14.Tag	21.Tag
1	0,47	0,17	0,22	0,14	0,18
2	0,56	0,22	0,32	0,22	0,17
3	0,56	0,22	0,31	0,14	0,19
4	0,60	0,35	0,31	0,17	0,19
5	0,44	0,17	0,22	0,14	0,09
6	0,43	0,33	0,24	0,17	0,17
7	0,43	0,33	0,24	0,24	0,21
8	0,57	0,35	0,30	0,26	0,17
9	0,43	0,35	0,24	0,25	0,36
10	0,43	0,30	0,30	0,26	0,26
11	0,43	0,27	0,28	0,19	0,22
12	0,34	0,25	0,26	0,19	0,30
13	0,40	0,31	0,35	0,12	0,29
14	0,33	0,25	0,26	0,14	0,25
15	0,41	0,26	0,29	0,13	0,26
16	0,35	0,17	0,21	0,14	0,30
17	0,35	0,35	0,22	0,14	0,29
18	0,27	0,17	0,19	0,09	0,25
19	0,22	0,29	0,23	0,12	0,09
20	0,45	0,22	0,30	0,12	0,11
21	0,52	0,26	0,29	0,12	0,09
22	0,52	0,26	0,29	0,16	0,13
23	0,42	0,27	0,29	0,14	0,10
24	0,39	0,22	0,26	0,13	0,13
25	0,54	0,57	0,33	0,11	0,16
26	0,42	0,38	0,26	0,22	0,14
27	0,52	0,29	0,39	0,29	0,20
28	0,47	0,38	0,30	0,24	0,20
29	0,33	0,26	0,26	0,18	0,15
30	0,43	0,47	0,33	0,25	0,22

4.a) ATP (mmol/l)

	Ab.Tag	7.Tag	21.Tag
1	0,17	0,50	0
2	0,26	0,35	0
3	0,20	0,32	0,04
4	0,23	0,42	0,18
5	0,25	0,37	0,12
6	0,22	0,44	0,08
7	0,19	0	0,07
8	0,15	0,26	0,11
9	0,15	0	0,01
10	0,23	0	0,19
11	0,36	0	0,13
12	0,27	0	0,03
13	0,30	0,34	0
14	0,25	0,22	0
15	0,33	0,20	0
16	0,30	0,22	0
17	0,35	0,26	0
18	0,40	0,17	0
19	0,12	0,17	0
20	0,36	0,04	0
21	0	0	0
22	0,04	0,13	0,10
23	0,24	0	0,05
24	0,15	0	0

5. 2,3-Diphosphoglycerinsäure (µmol/ml)

	Ab.Tag	1.Tag	7.Tag	14.Tag	21.Tag
1	1,30	1,32	1,61	1,35	0,37
2	1,59	2,04	2,32	1,28	0,25
3	1,17	2,03	2,40	1,22	0,29
4	1,71	2,31	2,23	2,23	0,56
5	1,49	1,43	1,87	1,10	0,23
6	1,44	1,69	1,46	1,36	0,75
7	1,73	1,49	1,61	1,15	0,23
8	1,66	1,66	1,93	1,26	0,29
9	1,31	1,50	1,55	1,37	0,36
10	1,27	1,33	1,58	1,16	0,31
11	1,49	1,56	1,55	1,19	0,27
12	1,23	1,32	1,48	0,94	0,25
13	1,59	1,66	1,76	0,77	0,18
14	1,67	1,61	1,78	0,82	0,20
15	1,52	1,45	1,69	0,52	0,37
16	1,67	1,63	1,75	0,60	0,14
17	1,40	1,52	1,57	0,49	0,12
18	1,26	1,25	1,22	0,49	0,10
19	1,58	1,52	1,58	0,59	0,32
20	1,43	1,36	1,66	0,40	0,13
21	1,30	1,20	1,39	0,29	0,13
22	1,48	1,53	1,73	0,56	0,25
23	1,38	1,33	1,50	0,44	0,17
24	1,40	1,46	1,63	0,48	0,21
25	1,56	1,61	1,75	0,50	0,22
26	1,25	1,25	1,39	0,23	0,12
27	1,55	1,48	1,69	0,66	0,19
28	1,48	1,47	1,51	0,62	0,27
29	1,33	1,37	1,35	0,31	0,19
30	1,58	1,48	1,58	0,58	0,39

6. Glucose (mmol/l)

	Ab.Tag	1.Tag	7.Tag	14.Tag	21.Tag
1	12,91	12,40	8,76	7,42	6,89
2	14,84	13,31	8,02	7,96	5,45
3	14,34	13,04	10,30	7,09	5,48
4	15,49	13,95	9,74	7,65	6,69
5	14,59	12,83	10,24	9,19	7,82
6	14,52	12,89	11,18	8,84	7,82
7	13,34	14,69	9,90	7,84	6,66
8	12,55	12,73	6,98	6,63	4,26
9	14,81	14,10	9,93	8,15	7,06
10	15,00	12,60	9,96	7,37	6,20
11	15,84	14,17	10,28	7,76	6,63
12	15,88	14,53	10,72	8,39	7,06
13	15,48	15,19	10,07	6,70	5,77
14	17,06	13,53	9,73	7,22	6,36
15	15,51	14,35	6,64	5,29	4,71
16	15,93	12,98	9,67	6,08	4,19
17	16,00	11,68	8,54	6,58	5,52
18	15,17	14,67	9,60	6,75	6,98
19	16,52	16,01	11,83	7,86	8,01
20	14,96	13,80	7,57	6,24	6,46
21	14,42	14,14	9,37	6,84	5,37
22	14,29	12,63	9,15	7,47	4,08
23	15,31	13,49	8,39	6,57	5,83
24	13,56	13,86	9,78	7,29	6,29
25	14,93	13,55	8,19	6,34	3,80
26	14,74	13,33	8,46	5,27	5,61
27	15,09	15,43	9,17	6,70	5,93
28	17,53	15,30	8,34	6,22	6,06
29	17,17	14,80	8,34	7,40	5,84
30	15,47	13,48	10,00	5,38	5,90

6.a) Glucose (mmol/l)

	Ab.Tag	7.Tag	21.Tag
1	10,589	10,014	6,051
2	10,360	11,341	7,815
3	7,259	10,115	7,314
4	6,008	10,838	6,259
5	9,972	10,477	7,314
6	10,043	7,098	3,493
7	10,121	6,932	5,375
8	9,016	7,321	6,318
9	8,589	7,666	6,274
10	10,497	8,573	6,603
11	10,799	7,904	6,449
12	5,148	7,364	3,861
13	11,049	7,926	8,866
14	7,153	9,052	7,445
15	5,567	8,110	5,144
16	5,584	7,373	4,219
17	5,398	8,049	0,068
18	3,509	8,130	5,527
19	10,263	8,432	2,756
20	9,774	10,599	10,985
21	7,305	10,563	1,722
22	12,079	8,397	12,861
23	9,835	7,680	11,138
24	10,202	9,202	0,459

7. Glucose-6-Phosphat (nmol/ml)

	Ab.Tag	1.Tag	7.Tag	14.Tag	21.Tag
1	5,70	0	12,46	8,55	0
2	11,40	0	8,55	0	0
3	8,55	0	11,40	0	0
4	11,40	0	17,96	0	0
5	0	0	5,70	0	0
6	0	0	17,96	0	0
7	17,96	8,55	11,40	0	0
8	19,94	0	11,40	11,40	0
9	12,46	0	8,55	5,70	0
10	19,94	0	12,46	11,40	0
11	19,94	0	12,46	8,55	0
12	19,94	0	12,46	8,55	0
13	11,40	0	8,55	31,34	8,55
14	0	0	0	28,49	8,55
15	12,46	11,40	0	28,49	8,55
16	11,40	0	0	19,94	8,55
17	8,55	8,55	8,55	17,96	8,55
18	5,70	8,55	0	19,94	11,40
19	0	0	8,55	0	11,40
20	0	0	11,40	0	8,55
21	0	0	85,48	0	5,70
22	0	0	12,46	0	8,55
23	0	0	0	0	5,70
24	0	0	12,46	0	12,46
25	11,40	0	8,55	11,40	8,55
26	8,55	11,40	12,46	8,55	11,40
27	5,70	0	25,64	12,46	8,55
28	8,55	8,55	8,55	12,46	11,40
29	8,55	0	11,40	11,40	11,40
30	8,55	12,46	12,46	12,46	8,55

8. Fructose-6-Phosphat (nmol/ml)

	Ab.Tag	1.Tag	7.Tag	14.Tag	21.Tag
1	14,12	0	0	0	8,47
2	5,65	0	0	0	8,47
3	8,47	0	0	0	0
4	8,47	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0
6	11,30	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0
9	0	0	11,30	0	0
10	0	0	8,47	0	0
11	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0
13	0	0	0	0	5,65
14	0	0	0	11,30	8,47
15	0	0	0	0	5,65
16	0	8,47	0	0	8,47
17	0	0	8,47	0	8,47
18	0	0	0	0	14,12
19	0	0	0	0	0
20	0	0	0	0	0
21	0	0	0	0	0
22	0	0	0	0	0
23	0	0	0	0	0
24	0	0	0	0	0
25	0	11,30	33,89	0	0
26	0	11,30	25,41	0	0
27	0	0	16,94	0	0
28	0	14,12	28,24	8,47	0
29	0	0	36,71	0	0
30	0	0	33,89	0	0

9. Fructose-1,6-Diphosphat (nmol/ml)

	Ab.Tag	1.Tag	7.Tag	14.Tag	21.Tag
1	8,29	82,93	110,58	0	0
2	0	81,55	105,05	5,53	2,76
3	0	85,69	98,14	0	0
4	0	80,17	102,29	6,91	0
5	5,53	95,37	69,11	2,76	0
6	4,17	85,69	98,14	13,82	0
7	62,20	63,58	115,08	6,91	6,91
8	88,46	51,14	93,99	8,29	11,06
9	55,29	64,97	113,34	8,29	6,91
10	85,70	41,47	87,08	6,91	11,06
11	81,70	37,32	77,41	8,29	13,82
12	93,99	52,53	82,99	6,91	11,06
13	6,91	60,82	73,26	0	15,20
14	20,73	56,67	67,73	0	6,91
15	27,65	29,03	84,32	0	11,06
16	9,68	62,20	81,55	0	9,68
17	8,29	58,05	63,58	0	6,91
18	6,91	62,20	78,79	0	4,15
19	66,35	66,35	45,61	0	11,06
20	13,82	74,64	33,17	4,15	11,06
21	71,88	47,00	81,55	0	0
22	34,56	45,61	71,88	0	0
23	47,00	55,29	77,41	0	5,23
24	34,56	55,29	82,39	6,91	4,15
25	69,11	63,58	8,29	13,82	0
26	60,82	66,35	19,35	6,91	0
27	85,70	58,05	78,79	8,29	0
28	87,08	64,79	34,56	11,06	0
29	98,14	69,11	4,15	17,97	0
30	69,11	82,93	93,99	8,29	0

9.a) Fructose-1,6-Diphosphat (nmol/ml)

	Ab.Tag	7.Tag	21.Tag
1	96,76	105,05	0
2	105,05	128,55	0
3	89,85	76,02	0
4	93,99	93,99	0
5	105,05	85,69	0
6	80,17	78,79	0
7	82,93	92,61	0
8	103,67	73,26	0
9	114,73	73,26	0
10	106,43	78,79	0
11	24,88	41,47	0
12	66,35	93,99	0
13	69,11	55,29	0
14	107,40	71,87	0
15	66,35	70,49	0
16	77,41	71,88	0

10. Glycerinaldehyd-3-Phosphat (nmol/ml)

	Ab.Tag	1.Tag	7.Tag	14.Tag	21.Tag
1	63,93	19,29	5,51	0	0
2	0	13,78	0	0	0
3	0	5,51	0	0	0
4	0	16,54	0	0	0
5	0	11,02	0	0	0
6	0	11,02	0	0	0
7	0	0	0	11,02	8,27
8	0	0	8,27	24,80	13,78
9	0	0	8,27	19,29	27,56
10	0	0	5,51	22,05	13,78
11	0	0	11,02	22,05	16,54
12	0	0	13,78	27,56	13,78
13	11,02	8,27	19,29	0	0
14	11,02	0	19,29	0	24,80
15	16,54	13,78	13,78	0	19,29
16	8,27	0	13,78	0	13,78
17	8,27	13,78	11,02	0	24,80
18	11,02	0	11,02	0	24,80
19	11,02	13,78	5,51	8,27	11,02
20	8,27	11,02	0	8,27	13,78
21	13,78	11,02	11,02	11,02	0
22	11,02	13,78	8,27	8,27	0
23	11,02	11,02	5,51	13,78	0
24	8,27	19,29	11,02	8,27	8,27
25	16,54	11,02	0	27,56	0
26	5,51	16,54	11,02	19,29	0
27	13,78	11,02	0	16,54	0
28	13,78	11,02	11,02	27,56	0
29	22,05	16,54	0	19,29	0
30	13,78	13,78	0	13,78	0

11. Dihydroxyacetonphosphat (nmol/ml)

	Ab.Tag	1.Tag	7.Tag	14.Tag	21.Tag
1	0	122,49	84,38	0	21,78
2	21,78	133,38	65,33	0	24,50
3	27,22	130,66	62,61	0	16,33
4	13,61	119,77	57,16	0	29,94
5	13,61	111,61	49,97	0	16,33
6	19,06	130,66	95,27	0	24,50
7	54,44	114,33	43,55	16,33	13,61
8	65,33	141,55	95,27	13,61	24,50
9	38,11	114,33	57,19	24,50	8,17
10	65,33	157,88	108,88	8,17	10,89
11	78,94	174,21	111,61	13,61	13,61
12	59,89	146,99	92,55	13,61	13,61
13	27,22	138,83	119,77	10,89	8,17
14	27,22	136,10	119,77	0	0
15	40,83	168,77	95,27	0	0
16	29,94	138,83	111,61	8,17	0
17	27,22	136,10	57,19	0	0
18	24,50	125,22	125,26	0	0
19	78,94	144,27	29,94	13,61	21,78
20	29,94	122,49	24,50	19,05	19,05
21	98,00	152,44	57,16	13,61	13,61
22	57,16	152,44	43,55	10,89	13,61
23	68,05	138,83	51,72	8,17	19,05
24	78,94	144,27	62,61	10,89	10,89
25	46,28	130,66	8,17	10,89	19,05
26	45,53	114,33	13,61	13,61	0
27	62,61	119,77	57,16	16,33	0
28	81,66	108,88	27,22	13,61	0
29	62,61	108,88	8,17	13,61	0
30	46,28	95,27	76,22	16,33	0

11.a) Dihydroxyacetonphosphat (nmol/ml)

	Ab.Tag	7.Tag	21.Tag
1	107,15	98,91	0
2	93,42	38,47	0
3	60,45	46,71	0
4	74,18	27,48	o
5	49,46	35,72	0
6	76,93	54,95	0
7	79,68	38,46	0
8	74,18	35,72	0
9	43,96	87,92	0
10	54,95	35,72	0
11	71,44	38,47	0
12	181,34	76,93	0
13	156,61	85,17	0
14	82,43	79,69	0
15	60,45	54,95	0
16	68,69	82,43	0
17	41,21	82,43	0
18	93,42	82,43	0

12. 2-Phosphoglycerat (µmol/ml)

	Ab.Tag	1.Tag	7.Tag	14.Tag	21.Tag
1	0,042	0,054	0,031	0,006	0,025
2	0,042	0,058	0,025	0,019	0,008
3	0,048	0,049	0,037	0,031	0,006
4	0,052	0,056	0,021	0,019	0,015
5	0,042	0,035	0,021	0,017	0,019
6	0,042	0,062	0,033	0,023	0,019
7	0,031	0,021	0,042	0,023	0,017
8	0,021	0,013	0,037	0,021	0
9	0,010	0,021	0,040	0,042	0,029
10	0,008	0,013	0,037	0,027	0,017
11	0,017	0,017	0,042	0,023	0,017
12	0,017	0,013	0,040	0,019	0,013
13	0,027	0,029	0,029	0,015	0
14	0,033	0,035	0,035	0,021	0
15	0,035	0,031	0,035	0,006	0
16	0,021	0,027	0,033	0,008	0
17	0,027	0,033	0,033	0,021	0,010
18	0,017	0,025	0,033	0,012	0,017
19	0,035	0,031	0,025	0	0,015
20	0,031	0,037	0,029	0,004	0,019
21	0,029	0,039	0,029	0,015	0,044
22	0,033	0,037	0,029	0,021	0
23	0,040	0,040	0,023	0,012	0
24	0,040	0,042	0,031	0,021	0,015
25	0,031	0,017	0,040	0,010	0
26	0,027	0,021	0,037	0,008	0,010
27	0,029	0,021	0,035	0,025	0
28	0,021	0,029	0,035	0,012	0,012
29	0,021	0,031	0,031	0,010	0,008
30	0,021	0,029	0,042	0,019	0,004

12.a) 2-Phosphoglycerat (µmol/ml)

	Ab.Tag	7.Tag	21.Tag
1	0,052	0,053	0
2	0,035	0,071	0
3	0,035	0,079	0
4	0,042	0,074	0
5	0,044	0,066	0
6	0,040	0,051	0
7	0,032	0,056	0,035
8	0,036	0,019	0,046
9	0,037	0,031	0,035
10	0,032	0,031	0,015
11	0,029	0,035	0,031
12	0,037	0,042	0,042
13	0,049	0,027	0,021
14	0,050	0,054	0,009
15	0,059	0,034	0,010
16	0,054	0,051	0,010
17	0,053	0,064	0,011
18	0,032	0,054	0,020

13. Phosphoenolpyruvat (µmol/ml)

	Ab.Tag	1.Tag	7.Tag	14.Tag	21.Tag
1	0,069	0,020	0,073	0,020	0,010
2	0,059	0,020	0,045	0,047	0
3	0,059	0,024	0,047	0,037	0
4	0,065	0,020	0,041	0,020	0,005
5	0,069	0,014	0,102	0,025	0,016
6	0,069	0,014	0,047	0,041	0,010
7	0,029	0,020	0,043	0,049	0
8	0,035	0,031	0,045	0,051	0
9	0,020	0,033	0,039	0,053	0,037
10	0,031	0,033	0,049	0,051	0,029
11	0,041	0,031	0,047	0,043	0,016
12	0,039	0,031	0,047	0,039	0,020
13	0,031	0,031	0,031	0,012	0
14	0,041	0,037	0,033	0,016	0
15	0,047	0,033	0,037	0,008	0
16	0,033	0,035	0,037	0,006	0
17	0,031	0,037	0,037	0,022	0
18	0,031	0,033	0,033	0,010	0,010
19	0,041	0,065	0,033	0,027	0
20	0,037	0,037	0,033	0,024	0,027
21	0,041	0,035	0,029	0,024	0,008
22	0,041	0,041	0,039	0,020	0,016
23	0,041	0,047	0,029	0,020	0,008
24	0,041	0,041	0,031	0,018	0,010
25	0,047	0,031	0,027	0,010	0
26	0,041	0,024	0,057	0,010	0,018
27	0,031	0,033	0,029	0,030	0,010
28	0,029	0,029	0,041	0,008	0,016
29	0,033	0,031	0,035	0,006	0,010
30	0,031	0,031	0,043	0,008	0,008

13.a) Phosphoenolpyruvat (µmol/ml)

	Ab.Tag	7.Tag	21.Tag
1	0,029	0,052	0
2	0,029	0,057	0
3	0,024	0,057	0
4	0,031	0,056	0
5	0,024	0,061	0
6	0,029	0,052	0
7	0,043	0,043	0,010
8	0,044	0,043	0,014
9	0,038	0,037	0,020
10	0,035	0,043	0
11	0,037	0,043	0
12	0,035	0,041	0,008
13	0,031	0,045	0,019
14	0,040	0,047	0,010
15	0,041	0,041	0,018
16	0,032	0,052	0,017
17	0,036	0,053	0,027
18	0,041	0,041	0,028
19	0,040	0,045	0

14. Pyruvat (mmol/l)

	Ab.Tag	1.Tag	7.Tag	14.Tag	21.Tag
1	-	-	-	-	0,731
2	-	-	-	-	1,093
3	-	-	-	-	0,550
4	-	-	-	-	0,603
5	-	-	-	-	0,724
6	-	-	-	-	0,751
7	0,072	0,109	0,069	0,594	0,907
8	0,043	0,063	0,063	0,606	0,916
9	0,036	0,080	0,109	0,863	0,972
10	0,040	0,082	0,062	0,787	0,968
11	0,040	0,082	0,098	0,719	0,851
12	0,051	0,082	0,069	0,508	0,643
13	0,065	0,063	0,065	0,824	0,760
14	0,082	0,063	0,082	0,815	0,623
15	0,076	0,063	0,058	0,706	0,599
16	0,067	0,060	0,053	0,704	0,822
17	0,080	0,060	0,060	0,809	0,815
18	0,078	0,069	0,045	0,695	0,650
19	0,043	0,036	0,100	0,650	0,838
20	0,042	0,036	0,089	0,586	0,451
21	0,045	0,045	0,054	0,561	0,688
22	0,054	0,045	0,092	0,545	0,625
23	0,036	0,038	0,245	0,570	0,563
24	0,054	0,029	0,054	0,599	0,596

14.a) Pyruvat (mmol/l)

	Ab.Tag	7.Tag	21.Tag
1	0,0	0,047	0,608
2	0,0	0,011	0,593
3	0,0	0,020	0,569
4	0,052	0,028	0,605
5	0,026	0,052	0,541
6	0,063	0,071	0,623
7	0,049	0,019	0,572
8	0,045	0,044	0,481
9	0,047	0,047	0,662
10	0,035	0,036	0,681
11	0,076	0,041	0,671
12	0,042	0,041	0,461
13	0,010	0,024	0,595
14	0,016	0,033	0,606
15	0,011	0,016	0,575
16	0,011	0,025	0,587
17	0,009	0,034	0,0
18	0,014	0,016	0,577
19	0,043	0,161	0,573
20	0,023	0,062	0,534
21	0,022	0,008	0,346
22	0,031	0,018	0,544
23	0,022	0,008	0,538
24	0,022	0,028	0,513

15. Lactat (mmol/l)

	Ab.Tag	1.Tag	7.Tag	14.Tag	21.Tag
1	0,90	2,45	7,47	11,10	13,04
2	0,96	2,61	9,31	12,94	13,86
3	1,37	2,54	8,31	10,76	12,52
4	1,63	2,69	8,80	11,87	12,76
5	1,32	2,41	5,95	10,95	13,01
6	0,65	1,79	6,02	8,09	11,49
7	1,74	2,95	8,80	11,90	14,92
8	1,30	2,41	8,79	13,39	14,59
9	1,74	3,36	8,67	13,53	15,32
10	1,21	2,51	8,72	14,10	16,14
11	1,08	2,27	7,66	12,47	13,45
12	0,93	2,05	8,51	12,47	13,29
13	2,25	4,47	12,39	15,00	17,39
14	1,55	2,90	10,33	13,99	15,32
15	1,11	3,39	12,80	16,22	19,23
16	0,72	1,99	9,85	11,66	15,97
17	0,73	3,28	10,30	12,71	15,97
18	1,08	2,61	8,67	11,90	13,86
19	1,27	2,15	8,46	12,63	15,00
20	1,63	2,41	9,05	12,88	16,95
21	1,01	2,07	9,31	13,73	15,32
22	1,21	2,48	9,80	14,51	16,30
23	0,73	1,96	8,66	9,47	15,73
24	0,75	2,05	8,00	12,96	14,92
25	0,70	2,89	11,00	14,11	15,89
26	0,69	1,53	7,35	10,76	13,86
27	0,67	1,79	10,69	12,88	16,88
28	0,82	2,28	9,78	15,00	17,77
29	0,47	1,79	9,70	11,74	15,81
30	0,98	2,41	10,30	12,63	17,36

15.a) Lactat (mmol/l)

	Ab.Tag	7.Tag	21.Tag
1	4,53	9,30	15,93
2	4,37	7,40	13,13
3	5,20	7,80	14,32
4	7,05	9,60	15,53
5	3,52	7,17	14,45
6	6,88	7,78	15,26
7	1,72	8,34	12,10
8	2,17	7,10	10,18
9	2,56	6,93	11,46
10	1,13	6,37	11,72
11	1,17	8,13	12,78
12	1,23	8,12	13,45
13	0,75	5,01	6,53
14	1,12	3,76	8,80
15	1,65	0,00	10,52
16	1,16	5,64	10,17
17	0,73	7,09	13,92
18	1,37	4,89	10,68
19	1,91	7,21	8,45
20	2,16	5,76	10,44
21	1,85	7,37	16,30
22	2,01	7,00	9,64
23	1,89	7,10	11,09
24	1,63	7,85	16,61

VII LITERATURVERZEICHNIS

1. AKERBLOM, C., ANDREASSON, K., De VERDIER, C.-H.:
Biochemical Variables Influencing the Storage Ability of Erythrocytes at +4°C
I. Interrelations between Variables in
VII. Internationales Symposium über Struktur und Funktion der Erythrocyten, Berlin, 22.-25. Aug. 1973
Akademie Verlag Berlin 1975

2. ANANDA:
Binding of Amino Acids and Serum Proteins in Vitro
J. Lab. Clin. Med. 76 (1970) 416-425

3. ASAKURA, T., SATO, Y., MINAKAMI, S., YOSHIKAWA, H.:
Effect of Desoxygenation of Intracellular Hemoglobin on Red Cell Glycolysis
J. Biochem. 59 (1966) 524-526

4. BENESCH, R., BENESCH, R.E.:
The Effect of Organic Phosphates from the Human Erythrocyte on the Allosteric Properties of Hemoglobin
Biochem. Biophys. Research Commun. 26 (1967) 162

5. BERGER, H., JÄNIG, G.-R., GERBER, G., RUCKPAUL, K., RAPOPORT, S.M.:
Interaction of Hemoglobin with Ions. Interactions among Magnesium, Adenosin-5'-Triphosphat, 2,3- Biphosphoglycerat and Oxygenated and Desoxygenated Human Haemoglobin under Simulated Intracellular Conditions
Europ. J. Biochem. 38 (1973) 553-562

6. BERGMEYER, H.U.:
Methoden der enzymatischen Analyse
Weinheim: Verlag Chemie 1970

7. BEUTLER, E., DURON, O.:
Factors Influencing the Preservation of Red Cell ATP on Storage
Fol. haemat. 83 (1965) 509-515

8. BEUTLER, E., MEUL, A., WOOD, L.A.:
Depletion and regeneration of 2,3-Diphosphoglyceric acid in stored red blood cells
Transfusion 9 (1969) 109

9. BEUTLER, E., WOOD, L.:
The in vivo regeneration of red cell 2,3-Diphosphoglyceric acid (DPG) after transfusion of stored blood
J. Lab. Clin. Med. 74 (1969) 300

10. BRÜCKNER, R.: Wechselwirkung von Kalium-Magnesium-Aspartat auf den Kohlehydratstoffwechsel bei Patienten unter Allgemeinanästhesie
Inauguraldissertation an der Universität Tübingen 1976

11. BUDDECKE, E.: Grundriß der Biochemie
4. Auflage
Berlin: De Gruyter 1974

12. BÜCHER, Th.: Biochim. biophys. Acta (Amst.)
1 (1947) 292

13. BUNN, H.F., MAY, M.H., KOCHOLATY, W.F., SHIELDS, C.E.:
Hemoglobin Function in Stored Blood
J. clin. Invest. 48 (1969) 311

14. BUNN, F., RANSIL, B.J., CHAO, A.:
The Interaction between Erythrocyte Organic Phosphates, Magnesium Ion and Hemoglobin
J. biol. Chem. 246 (1971) 5273-5279

15. CHANUTIN, H., CURNISH, R.R.:
Effect of Organic Phosphate and Inorganic Phosphate on the Oxygen Equilibrium of Human Erythrocytes
Arch. Biochem. Biophyse. 121 (1967) 96-102

16. CHAPMAN, R.G., HENNESSEY, M.A., WALTERSDORPH, M., HUENNEKENS, F.M., GABRIO, B.W.:
Erythrocyte metabolism: V. Levels of Glycolytic Enzymes and Regulation of Glycolysis
J. clin. Invest. 41 (1962) 1250

17. CHOW, S.T., McAULIFFE, C.A.:
Transition Metal Complexes Containing Tridentate Amino Acids

18. CIBA-GEIGY LIMITED:
Wissenschaftliche Tabellen Geigy
8. Auflage 1979, Basel, Schweiz
Band Blut S. 111

19. De VERDIER, C.-H., GARBY, L.:
Blood Preservation
in:

YOSHIKAWA/RAPOPORT
Cellular and molecular Biology of Erythrocytes
Urban und Schwarzenberg 1974

20. De VERDIER, C.-H., GARBY, L.:
Factors influencing the hexokinase activity in hemolysates
Fol. haem. 83 (1965) 317

21. DIETZE, F., SAUER, G., RADOPORT, S.:
Studien zur Phosphat-Lokalisation in der 2,3-Diphosphoglycerat-Mutase-Reaktion
Acta biol. med. german. 12 (1964) 312-321

22. Dr. Franz KÖHLER CHEMIE; Persönliche Mitteilung

23. FISCHER, H., FERBER, E., FRITZSCHE, W., WOSEGIEN, F., SPIELMANN, W.:
Erythrozytenstoffwechsel und Blutkonservierung
Bibl. haem. 12 (1961) 76-93

24. FOTH, O.: Inauguraldissertation im Druck

25. FOURNELL, A.: Biochemische Grundlagen der Wirkung von Kalium-Magnesium-Aspartat
in:
BEER, R., FINSTERER, U.,
Biochemische Eigenschaften und Möglichkeiten der klinischen Anwendung von Kalium-Magnesium-Aspartat
Kolloquium am 25.4.1970 in München
Editio Cantor KG., Aulendorf, Württ.
S. 9-15

26. GARBY, L., De VERDIER, C.-H.:
Affinity of Human Hemoglobin A to 2,3-Diphosphoglycerate. Effect of Hemoglobin Concentrations and pH.
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 27 (1971) 345-350

27. GARDOS, G.: The Role of 2,3-Phosphoglyceric Acid in the Potassium Transport of Human Erythrocytes
Experientia 22 (1966) 308

28. GERBER, G., BERGER, H., JÄNIG, G.-R., RADOPORT, S.M.:
Quantitative Description of the State of Magnesium, Adenosine-5'-Triphosphate, 2,3-Biphosphoglycerate and Human Haemoglobin under Simulated Intracellular Conditions
Europ. J. Biochem. 38 (1973) 563-571

29. GROß, U.: Dissertationsschrift in Vorbereitung

30. GÜNTHER, Th., DORN, F.:
Die intrazelluläre Magnesium-Ionenaktivität in verschiedenen Säugetierzellen
Z. Naturf. 266 (1971) 176

31. GÜNTHER. T.: Stoffwechsel und Wirkungen des intrazellulären Magnesiums
J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 15 (1977) 433-438

32. HELLER, W., BRÜCKNER, R. HIGI, M., JUNGER, H.:
Die Bedeutung des Kalium-Magnesium-Aspartats einschließlich der Spurenelemente für die operative Medizin

in:
Spurenelemente (Sonderdruck)
ed. R. Frey
Schattauer Verlag, Stuttgart-New York
1979

33. HENKIN, R.J., AGARWAL, R.P.:
Is Histidine the Prime Transport
Agent for Zinc in Humans
in:
G. PARTSCH and S. BATSFORD
Histidine II
Laboratory and Clinical Aspects-
Therapeutic Use of Histidine and Zinc
Second International Workshop, Vienna
Thieme Verlag, Stuttgart 1980

34. HURN, B. A. L.:
Storage of Blood
Academic Press, London 1968

35. JACOBASCH, G., MINAKAMI, S., RADOPORT, S.M.:
in:
YOSHIKAWA/RAPOPORT
Cellular and molcular Biology of
Erythrocytes
Urban und Schwarzenberg 1974

36. JACOBASCH, G., SYLLM-RAPOPORT, I., RAPOPORT, S.:
Regulierung der Glycolyse roter Blut-
zellen im Magnesiummangel
Acta biol. med. german. 13 (1964)
633-642

37. JUNGER, H.: Bluttransfusion und Empfängerorganis-
mus
Thieme Verlag Stuttgart 1977

38. KLÄGER, G.: Untersuchung über die Wirkung des Magnesium-Aspartat-ACD-Stabilisators auf den Kohlenhydratstoffwechsel und die Sauerstofftransportfunktion von Blutkonserven
Inauguraldissertation an der Universität Tübingen 1978

39. KOPPLE, I.D., FIGUEROA, W.G., SWENDSEID, M.E.: Histidine, an Essential Amino Acid in Adult Humans
in:
R. KLUTHE and N.R.KATZ
Histidine
Metabolism, Clinical Aspects, Therapeutic Use
First International Workshop Freiburg 1978
Thieme Verlag Stuttgart 1979

40. KÜHN, E., JACOBASCH, G., GERTH, Ch., RAPOPORT, S.: Influence of Effectors on the Phosphofructokinase of Erythrocytes from Rats
VII. Internationales Symposium über Struktur und Funktion der Erythrocyten Berlin 1973
Akademie Verlag Berlin 1975

41. KUHNLE, P.: Das Verhalten der Substrate des Citratcycluses in Konservenblut
Inauguraldissertation an der Universität Tübingen 1976

42. LEHNINGER, A.L.: Biochemie
2. Auflage
Weinheim: Verlag Chemie GmbH 1977

43. LIONETTI, F.J.:
Pentose Phosphate Pathway in Human Erythrocytes
in:
YOSHIKAWA/RAPOPORT
Cellular and molecular Biology of Erythrocytes
Urban und Schwarzenberg 1974

44. LUTZEYER, W.: Die Citratstabilisatoren
Bibl. haemat. 11 (1960) 17-34

45. MARCSEK, Z.: Über die Bedeutung des Magnesiumstoffwechsels
in:
MENZEL, H.
Kalium-Magnesium-Aspartat zur klinischen Bedeutung von Inzolen in der Intensivmedizin
2. Bielefelder Anaesthesiologisches Colloquium zu Fragen der Intensivmedizin am 17.10.1970
Bielefeld 1971
S. 21-26

46. MINAKAMI, S., SAITO, T., SUZUKI, C., YOSHIKAWA, H.:
The Hydrogen Ion Concentrations and Erythrocyte Glycolysis
Biochem. Biophys. Res. Commun. 17 (1964) 748

47. MINAKAMI, S., TSUDA, S., TOMODA, A.:
Intracellular pH of Stored Red Cells
VII. Internationales Symposium über Struktur und Funktion der Erythrocyten
Berlin 1973
Akademie Verlag Berlin 1975

48. MÜNCHEN, I.: Aspartate - Zur klinischen Bedeutung von Inzolen
Dr. Franz Köhler Chemie Alsbach/Bergstraße, 2. Auflage 1977

49. MÜNCHEN, I.: Über die Bedeutung des Kaliumstoffwechsels
in:
MENZEL, H.
Kalium-Magnesium-Aspartat zur klinischen Bedeutung von Inzolen in der Intensivmedizin
2. Bielefelder Anaesthesiologisches Colloquium zu Fragen der Intensivmedizin am 17.10.1970, Bielefeld 1971
S. 6-21

50. MUNZ, H.: Inauguraldissertation im Druck

51. OECKEL, E., RAPOPORT, S., HINTERBERGER, U., GERISCHER-MOTHES, W.:
Die pH-Abhängigkeit der anaeroben Glycolyse und der Hexokinase
Folia haemat. 78,4 (1962) 477-481

52. OTTO, M., HEINRICH, R., KÜHN, B., JACOBASCH, G.:
Mathematical Analysis of the Influence of ATP and Mg.-Ions on the PFK from Erythrocytes
VII. Internationales Symposium über Struktur und Funktion der Erythrocyten
Berlin 1973
Akademie Verlag Berlin 1975

53. PASSONNEAU, J.V., LOWRY, O.H.:
P-Fructokinase and the Control of the Citric acid Circle
Biochem. Biophys. Res. Commun. 13 (1963) 372

54. RADERECHT, H.J.:
Übersicht
Stoffwechsel der Blutzellen und seine Beeinflussung unter Konservierungsbedingungen
Fol. haem. 93 (1969) 117-183

55. RAPOPORT, S.M.:
Medizinische Biochemie
6. Auflage
Verlag Volk und Gesundheit 1975

56. RAPOPORT, S.: The Regulation of Glycolysis in Mammalian Erythrocytes
in
Essays in Biochemistry 4 (1968) 69
ed. by Campbell, N.P., Greville, G.D.
Academic Press London/New York

57. RAPOPORT, S.: Regulation of Metabolism in Red Cells
Bibl. haemat. 29,1 (1968) 133-145

58. RAPOPORT, S.: Reifung und Alterungsvorgänge in Erythrocyten
Fol. haem. 78 (1962) 364

59. RAPOPORT, S.: Stoffwechselregulation der roten Blutzelle
Fol. haem. 83 (1965) 299-310

60. RAPOPORT, S., ABABEI, L.:
Die Enzymregulation auf dem Niveau der Laktat-oxydoreduktase
Acta biol. med. germ. 13 (1964) 852-864

61. RAPOPORT, S., DIETZE, F., SAUER, G.:
Quantitative Aspekte des Phosphoglyceratzyklus in roten Blutzellen
Acta biol. med. germ. 13 (1964) 693-702

62. RAUEN: Biochemisches Taschenbuch
Springer Verlag 1964

63. REINAUER, H., BRUNS, H.F.:
Limitierende Faktoren der Glycolyse in roten Blutzellen des Menschen
Biochem. Zeitschrift 340 (1964) 503-521

64. RING, K.: Biochemische Grundlagen des aktiven Aminosäuretransportes
in:
HUTSCHENREUTER, K.
Kalium-Magnesium-Aspartat mit Beiträgen zur metabolischen Bedeutung des Zinks
Kolloquium am 18.3.1972 in Homburg/Saar
S. 7-34

65. RING, K., GRIMM, E., SCHWARZ, M.:
Stoffwechselwirkungen zwischen L-Aspartat und Kaliumionen beim Transport in lebende Zellen
in:

KRONSCHWITZ, H.
Kalium-Magnesium-Zink-Aspartat
15. Kolloquium am 15.3.1975 in
Frankfurt/Main
St.-Markus-Krankenhaus, Anästhesie-Abt.
Frankfurt/Main 50
S. 3-23

66. ROIGAS, H., DIETZE, F., RAPOPORT, S., SAUER, G.:
Über den Einfluß von Glycolyse-
zwischenprodukten auf die 2,3-PGase-
Aktivität roter Blutzellen
Fol. haem. 83 (1965) 380-386

67. SCHAIBLE, H.G.:
Stoffwechseluntersuchungen in konser-
viertem Vollblut unter Zusatz von
Magnesium-Aspartat
Inauguraldissertation an der
Universität Tübingen 1978

68. SCHMIDT, R.F., THEWS, G.:
Physiologie des Menschen
Springer Verlag 1977

69. SNYDERMAN, S.E.:
The Histidine Requirements of Infants
in:
R. KLUTHE and N.R. KATZ
Histidine
Metabolism, Clinical Aspects, Thera-
peutic Use
First International Workshop
Freiburg 1978
Thieme Verlag Stuttgart 1979

70. STIGGE, V., LUN, A., ZIEMER, S., STRAUSS, D., RADERECHT, H.J.:
Weitere Optimierung der ACD-AG-Konservierungslösung für Blut
Fol. Haemat. 101 (1974) 256-268

71. STRAUSS, D., STIGGE, V., GÜLKE, L., ROIGAS, H., RADERECHT, H.J.:
The Influence of pH Variations and Additives on the 2,3-DPG Level in Stored Erythrocytes
VII. Internationales Symposium über Struktur und Funktion der Erythrocyten in Berlin 1973
Akademie Verlag Berlin 1975

72. STRUCK, E., MEISNER, H., SCHMIDT-HABELMANN, P., SEBENING, F.:
Die Bedeutung von Magnesium im postoperativen Stoffwechsel
in:
KRONSCHWITZ, H.
Kalium-Magnesium-Zink-Aspartat
15. Kolloquium am 15.3.1975 in Frankfurt/Main
St-Markus-Krankenhaus, Anästhesie-Abt.
Frankfurt/Main 50
S. 158-180

73. VALTIS, D.J., KENNEDY, A.C.:
Defective Gas-Transport Function of Stored Red Blood Cells
The Lancet 1 (1954) 119

74. WERNER, W., REY, H.G., WIELINGER, H.:
Z. analyt. Chemie 252 (1970) 224

75. WILLENEGGER, H.:
Historisches und Grundsätzliches
zur Frage des idealen Stabilisators
Bibl. haemat. 11 (1960) 4-15

75. YOSHIKAWA, H., MINAKAMI, S.:
Metabolic Changes in Stored Blood
Bibl. haem. 29 (1968) 168

77. YOSHIKAWA, H., MINAKAMI, S.:
Regulation of Glycolysis in Human
Red Cells
Folia haemat. 89 (1968) 357-375

Herrn Professor Dr. med. W. Heller danke ich hiermit für die Überlassung des Themas und der Vergleichsdaten und die Unterstützung bei der Arbeit.

Dem Personal des Labors, besonders Frau Schwerdtfeger und Frau Laube, danke ich für die großzügige Hilfe bei der Durchführung des experimentellen Teils der Arbeit.

Herrn Dr. Schenzle vom Institut für Biometrie und besonders Frau Pietsch vom Institut für Datenverarbeitungund Medizinische Dokumentation der Universität Tübingen danke ich für ihre geduldige Beratung und freundliche Hilfe bei den Problemen der Statistik.

Frau cand. med. U. Groß danke ich für die Unterstützung und gute Zusammenarbeit.

L e b e n s l a u f

Am 24.3.1956 wurde ich, Gabriele Knaus, als Tochter des Schlossermeisters Adolf Knaus und seiner Frau Josefine Knaus, geb. Haug, in Sigmaringen geboren.

1963 Einschulung in die Volksschule in Hermentingen, Kreis Sigmaringen.

1966 - 1975 Besuch des staatlich anerkannten Mädchengymnasiums Liebfrauenschule in Sigmaringen mit Abschluß Abitur.

Ab April 1976 Studium der Medizin an der Eberhard-Karls-Universität in Tübingen.

Ab 19.10.1981 Praktisches Jahr in Stuttgart mit Wahlfach Neurologie an der Neurologischen Klinik des Bürgerhospitals und den Abschnitten Innere Medizin und Chirurgie am Diakonissenkrankenhaus.

Am 5.10.1982 legte ich den schriftlichen Teil und

am 25.10.1982 den mündlichen Teil des dritten Teils des Medizinischen Staatsexamens in Stuttgart ab.